UNIVERSITÉ DE STRASBOURG — FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1942-43 N° 811

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE COMPARATIVE DE CERTAINES MÉTHODES DE DOSAGE DU GLUCOSE ET DU LACTOSE

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le Décembre 1942
devant la FACULTE DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Strasbourg
(Mention Pharmacie)

PAR

ANDRÉ JULIEN
Pharmacien
pourvu du Certificat de Microbiologie et Parasitologie
et du Certificat d'Analyses de Produits Alimentaires et Biologiques

EXAMINATEURS DE LA THÈSE : MM. P. CORDIER, Professeur, *Président.*
Y. VOLMAR, Professeur, *Juge.*
CH. LAPP, Professeur, *Juge.*

CLERMONT-FERRAND-PARIS
IMPRIMERIES PAUL VALLIER
1942

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG — FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1942-43 N° 311

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE COMPARATIVE DE CERTAINES MÉTHODES DE DOSAGE DU GLUCOSE ET DU LACTOSE

THÈSE

présentée et soutenue publiquement le Décembre 1942
devant la FACULTE DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de Docteur de l'Université de Strasbourg
(Mention Pharmacie)

PAR

ANDRÉ JULIEN
Pharmacien
pourvu du Certificat de Microbiologie et Parasitologie
et du Certificat d'Analyses de Produits Alimentaires et Biologiques

EXAMINATEURS DE LA THÈSE :
MM. P. CORDIER, Professeur, *Président.*
Y. VOLMAR, Professeur, *Juge.*
CH. LAPP, Professeur, *Juge.*

CLERMONT-FERRAND-PARIS
IMPRIMERIES PAUL VALLIER
1942

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. A. SARTORY, *Doyen*, C. ✻, I. ✿, C. ❁
VOLMAR, *Assesseur*, ✻, I. ✿
MARANDON, *Secrétaire*, ✻, ⁂, ✿

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✿, ❁

PROFESSEURS

MM. A. SARTORY, C. ✻, I. ✿, C. ❁	Bactériologie.
LAVIALLE, ✻, I. ✿, ❁	Botanique.
VOLMAR, ✻, I. ✿	Chimie organique.
GUILLAUME, O. ✻, ⁂, I. ✿, ❁	Pharmacie galénique.
LAPP, I. ✿	Chimie analytique.
CORDIER, ✿	Pharmacie chimique.
R. SARTORY, ✿, ❁	Matière médicale.

MAITRE DE CONFÉRENCE

M. DUQUENOIS	Toxicologie.

PROFESSEUR HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✿, ❁

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM. A. SARTORY	Hygiène.
LAVIALLE	Hydrologie.
VOLMAR	Chimie minérale.
GUILLAUME	Zoologie.
LAPP	Physique.
PRÉLOT	Législation et Déontologie.
CORDIER	Chimie biologique.
R. SARTORY	Cryptogamie.
Mme LALLEMAND, ✿	Pharmacodynamie.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

M. COLLARD, ✻, ⁂, I. ✿	Chimie pharmaceutique.
Mme LALLEMAND, ✿	Chimie et Physique.
MM. JÆGER	Histoire naturelle.
LEDOUX, ✻	Bactériologie et Parasitologie.

A Notre Cher Maitre et Président de Thèse :

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. CORDIER

PROFESSEUR DE PHARMACIE CHIMIQUE ET DE CHIMIE BIOLOGIQUE

A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

Qui non seulement nous a inspiré le sujet de cette thèse, mais qui nous a constamment dirigé et guidé au cours de son élaboration, témoignage de vive et respectueuse reconnaissance.

A Nos Juges :

MONSIEUR LE PROFESSEUR Y. VOLMAR

PROFESSEUR DE CHIMIE GÉNÉRALE A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG

MEMBRE CORRESPONDANT DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR

MONSIEUR LE PROFESSEUR Ch. LAPP

PROFESSEUR DE CHIMIE ANALYTIQUE ET TOXICOLOGIE

A LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE STRASBOURG

Respectueux hommages.

A Notre Maitre :

MONSIEUR LE PROFESSEUR GAUTHIER

En souvenir de l'année où il nous fit l'honneur de nous accepter comme préparateur à ses cours et de la bonté avec laquelle il guida nos premiers pas au laboratoire, hommage de profonde gratitude.

A Notre Maitre de Stage :

MONSIEUR LE DOCTEUR M. THÉVENARD

En témoignage de notre respectueuse reconnaissance.

A TOUS NOS MAITRES
DE L'ÉCOLE DE PHARMACIE DE CLERMONT-FERRAND
ET DE LA FACULTÉ DE STRASBOURG

A MA MÈRE

A MON PÈRE

Je leur dédie cette thèse, faible témoignage de mon affection filiale.

A MES AMIS

INTRODUCTION

On a depuis longtemps imaginé un procédé classique de dosage d'un mélange de deux sucres, tels que le glucose et le lactose, basé sur l'examen polarimétrique et sur le pouvoir réducteur.

Cependant, cette technique ne peut être employée que pour des solutions de concentration supérieure à 10 p. mille, étant donné les faibles déviations lues au polarimètre pour des taux inférieurs.

Or il existe en chimie biologique un cas intéressant de présence simultanée de deux sucres, le glucose et le lactose.

La lactosurie, de diagnostic bénin au cours de la grossesse, peut se doubler de glycosurie, témoin d'une affection grave : le diabète.

Il est donc intéressant de différencier ces deux sucres de l'urine, et d'en savoir apprécier les proportions à des concentrations faibles, celles dans lesquelles on les trouve dans ce milieu.

Nous nous sommes donc proposé, sous la direction de notre Maître, M. le Professeur Cordier, d'étudier de façon systématique le problème du dosage du glucose en présence du lactose.

Avant d'exposer les recherches que nous avons faites et les résultats auxquels nous sommes arrivés, nous tenons à remercier M. le Professeur Cordier de l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de diriger nos études. Tout au cours de nos travaux, notre Maître n'a cessé de nous témoigner la plus grande bienveillance et les conseils les plus éclairés.

Nous nous permettons de lui présenter ici l'expression de notre vive admiration et de notre entier dévouement. Nous ne cesserons de conserver avec gratitude le souvenir de la haute autorité de son enseignement autant que de la bienveillante sympathie dont il nous a entouré.

Au moment de quitter la Faculté, nous nous faisons un devoir d'exprimer nos remerciements à tous nos Maîtres pour le précieux enseignement qu'ils nous ont donné, et en particulier à MM. Volmar et Lapp, Professeurs à la Faculté de Pharmacie, pour l'honneur qu'ils nous ont fait de participer à notre Jury de Thèse.

RAPPEL DES TECHNIQUES PROPOSÉES POUR LE DOSAGE D'UN MÉLANGE DE GLUCOSE ET DE LACTOSE

De nombreux travaux ont été exécutés pour tenter d'effectuer le dosage d'un mélange de glucose et de lactose, d'après les propriétés les plus diverses des deux sucres.

CASTELLINI et TAYLOR proposent une méthode basée sur des propriétés bactériologiques : le *Bacterium coli communis* consommant le lactose, alors que le *Para A* ne le consomme pas ; tous les deux consommant le glucose. Le pouvoir réducteur étant dosé avant et après ensemencement. Mais cette méthode n'est pas rigoureusement spécifique et ne présente aucun caractère pratique.

BAUER, après hydrolyse, « oxyde le galactose entrant dans la constitution du lactose par NO^3H ». Il obtient de l'acide mucique qu'il dose gravimétriquement. Méthode peu précise, non applicable à de petites quantités de lactose.

FREUND et LUSTIG défèquent par l'acétate de plomb en milieu acétique et éliminent le plomb en excès par SO^4H^2. Ils concentrent le filtrat à petit volume et extraient le lactose par digestions successives dans l'alcool bouillant, suivies de concentrations. Mais la suite des opérations est longue et coûteuse et le rendement faible.

COLE sépare le lactose du glucose par une adsorption sélective sur du noir animal. Mais suivant les échantillons de noir, les résultats ne sont pas constants.

BIGWOOD et SCHNOECK (1) essaient de séparer les deux sucres par les osazones. Le rendement n'est pas quantitatif et les questions de solubilité suivant la température ne sont pas nettement délimitées. D'autre part, dans les urines à faible teneur en glucose (2), au lieu de se présenter sous l'aspect de branches de genêt ou de pinceaux déliés, la glucosazone affecte une forme compacte, globuleuse qui pourrait

en imposer pour du lactose. Pour un taux de glucose moindre de 4 p.mille les urines diabétiques manifestent une réaction phényl-hydrazinique douteuse, pouvant induire en erreur. Cette modification paraissant due à la présence dans l'urine de produits créatiniques jouant vis-à-vis du réactif le rôle analogue qu'ils jouent dans la transformation colloïdale et le retard de formation du précipité d'oxyde cuivreux obtenu avec le Fehling sur les urines faiblement sucrées.

Nottin (3) s'appuie sur les travaux de Legrand, d'après lesquels les monnoses (glucose, lévulose, galactose...) réduisent l'oxyde cuivrique de l'acétate de cuivre (Liqueur de Barfoed ; 1 partie d'acétate de cuivre dans 15 parties d'eau et ajouter à 200 cc de cette solution 5 cc de CH^3COOH à 38 %) et les bioses (lactose, maltose...) ne le réduisent pas. L'oxydule de Cu est recueilli sur un filtre ordinaire et le Cu dosé suivant Gabriel Bertrand par le sulfate ferrique et le permanganate. Mais il reconnaît que le maltose et le lactose réduisent légèrement le réactif de Barfoed.

Fleury et Tavernier (4) constatent que le dosage à l'aide de ce réactif, du glucose en présence de lactose, donne des erreurs par excès, même quand la dose de lactose est très inférieure à la dose limite non réductrice.

D'autre part, les chlorures alcalino-terreux et alcalins exercent une action retardatrice remarquable, action déjà appréciable pour une concentration de 2 p. mille dans la liqueur sucrée ; c'est le cas de tout liquide biologique.

Ils concluent que le dosage du glucose en présence de lactose par un réactif à base d'acétate de Cuivre se heurte à de nombreuses difficultés et ne peut se prêter à des déterminations à la fois exactes et sensibles.

Hildt (5) dose le glucose en présence de lactose par la méthode cuprométrique directe. De nombreux dosages effectués sur des solutions à 1 % de lactose hydraté pur, lui ont donné constamment pour 10 cc de liqueur cupro-alcaline 7,1 cm3 avant hydrolyse et 5,1 cm3 après hydrolyse. Il effectue l'hydrolyse complète du lactose à l'aide d'un catalyseur à base de benzène-sulfonate de soude, en maintenant 6 heures à l'étuve à 95-98°. Un dosage au Fehling et un après lui donnent deux équations à deux inconnues facilement réductibles. L'inconvénient de

cette méthode venait du fait qu'elle ne pouvait être appliquée à un semi microdosage et que la plus faible erreur d'analyse s'amplifiait par l'équation.

Barsoum (6) reprend l'étude de l'hydrolyse du lactose par différents acides et étudie l'emploi des acides sulfurique et chlorhydrique à la concentration de 2 %, concentration pour laquelle les sucres ne subissent pas d'altération, et exécute les dosages des mélanges par la méthode de Bertrand. Les résultats trouvés sont entachés d'une erreur moyenne de 5 % en excès pour le lactose et de 8 % par défaut pour le glucose.

Nous voyons par ce rapide aperçu que la plupart de ces techniques proposées reposent sur la recherche et l'obtention de deux équations à deux inconnues, la première sur le mélange intact, la seconde sur le produit résultant d'un traitement faisant disparaître ou transformant un des sucres.

Nous avons d'abord voulu choisir des méthodes de dosage capables de nous donner entière satisfaction.

Nous avons estimé ne pas devoir utiliser la technique de Gabriel Bertrand, pour l'obtention de nos équations, car reposant sur les résultats empiriques de très nombreuses expériences, sa fonction n'est pas nettement définie. La réduction du réactif cuprosodique par les sucres n'étant pas proportionnelle, la courbe qui représente cette réduction en fonction de la quantité de glucide n'est pas linéaire ; l'existence des tables nous le prouve. Il en résulte qu'il ne peut y avoir a priori une proportionnalité rigoureuse entre les quantités respectives de glucose et de lactose possédant le même pouvoir réducteur ; ce raisonnement est valable pour tous les sucres ne possédant pas le même pouvoir que le glucose. Ainsi, avec la méthode de Bertrand, le coefficient de correspondance du lactose en glucose ne pourra être qu'approché, puisque subissant des variations assez sensibles. Nous verrons, au cours de notre travail, que cette méfiance envers la méthode de Bertrand se trouve pleinement justifiée dans le cas d'un mélange de deux sucres.

Nous ne l'avons, en général, utilisée que pour des dosages de solutions simples où elle nous donna des résultats excellents, meilleurs que par toute autre méthode.

Nous avons donc cherché à n'utiliser que des techniques où l'emploi de tables empiriques n'est pas nécessaire, où il y a proportionnalité exacte, fonction linéaire, entre la quantité de sucre mise en expérience et le résultat volumétrique, ou autrement dit, nous avons cherché si dans certains cas, l'oxydation du sucre par le réactif ne suivait pas une loi linéaire.

Nous avons été amené à examiner trois techniques qui, dans des limites assez étroites et dans des conditions déterminées nous ont paru susceptibles de répondre à ces conditions.

Nous avons donc divisé notre travail en trois parties :

Première partie :

CHAPITRE I. — L'Iodomercurométrie.

CHAPITRE II. — L'Iodométrie.

CHAPITRE III. — La Chromométrie ; au cours de l'examen de cette technique, nous avons été amené à examiner l'entraînement cupro-barytique du glucose et du lactose.

Deuxième partie :

Etude critique de l'hydrolyse du lactose.

Troisième partie :

Essai de dosage de mélanges de glucose et de lactose :

Par la méthode de BERTRAND avant et après hydrolyse.
Par l'iodomercurométrie et l'iodométrie.
Par l'iodomercurométrie et la méthode de BERTRAND.

Conclusions.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I

Étude de l'Iodomercurométrie

FLEURY et MARQUE (7) ont donné en 1929 une technique pour l'application de l'iodomercurate alcalin au dosage de quantités de glucose comprises entre 2 et 20 milligrammes.

L'action de l'iodomercurate, simple et nette à froid, devient beaucoup plus complexe à chaud. Selon les cas, le précipité de réduction est constitué par Hg^2I^2 ou Hg, ou le mélange des deux. Si la précipitation a été faite brusquement et à froid, le précipité est le plus souvent très divisé et se redissout très facilement dans l'iode. On cherche à précipiter ce mercure sur un support inerte, constitué en l'occurrence par une suspension à 10 % de Sulfate de Baryum précipité.

Soit la technique utilisée :

Dans une fiole de 125 cc :

Liqueur iodomercurielle	5 cc.
Solution NaOH N (Soude pure du sodium)	5 cc.
Solution sucrée.	
Suspension de SO^4Ba à 10 %	5 cc.
Eau distillée, Q.S.p. environ	80 cc.

Immerger la fiole au bain-marie à ébullition, de façon que l'eau dépasse le niveau du liquide de la fiole.

Après 6 à 8 minutes, refroidir en plongeant l'Erlenmeyer 6 à 7 minutes dans un courant d'eau froide.

Ajouter :

Acide sulfurique à 20 % en volume.....	5 cc.

Refroidir et verser :

Solution d'iode N/10	5 cc.

Abandonner en agitant de temps à autre jusqu'à disparition totale du mercure.

Titrer par $S^2O^3Na^2$ N/10.

En déduire le nombre de cc d'I N/10 consommés.

La quantité de glucose est calculée, sachant que :

2,48 cc I N/10 → 10 mgrs de glucose anhydre
d'où 1 cc I N/10 → 4,03 mgrs de glucose anhydre

pour le lactose :

1,98 cc I N/10 → 10 mgrs lactose anhydre
1,881 cc I N/10 → 10 mgrs lactose hydraté
d'où 1 cc I N/10 → 5,04 mgrs lactose anhydre
1 cc I N/10 → 5,305 mgrs lactose hydraté

Solutions employées

Liqueur iodomercurielle :

Iodure mercurique	3,6 grs
Iodure de potassium	12 grs
Eau distillée, Q.S.p.	100 cc

Solution fragile, ne se conservant bien qu'à l'obscurité ou entourée de papier noir. Il est préférable de la préparer extemporanément par 50 cc au maximum.

Solution d'Iode N/10 :

Cette solution doit être parfaitement exacte et stable. Nous employons pour la titrer une solution titrée de As^2O^3, préparée ainsi qu'il suit :

Sublimer dans un gros tube à essai quelques grammes d'anhydride arsénieux. Recueillir soigneusement sur les parois du tube, avec une spatule en verre les cristaux très fins de As^2O^3 et les dessécher à l'étuve à 100°.

Porter au dessicateur et, après deux heures, en peser exactement 495 mgrs au 1/10 de mgr près.

Faire tomber ces 495 mgrs de As^2O^3 dans un petit Erlenmeyer et ajouter 5 cc HCl pur et 3 cc d'eau distillée. Chauffer au bain-marie jusqu'à dissolution complète.

Laisser refroidir.

A l'aide d'un entonnoir, faire passer cette solution dans une fiole jaugée de 100 cc. Rincer 4 ou 5 fois l'Erlenmeyer avec de l'eau distillée et compléter à 100 cc.

Pour titrer la solution d'iode, on mesure exactement 10 cc de la solution arsénieuse dans un Bécher et l'on ajoute environ 5 grs de bicarbonate de potassium et quelques cc d'empois d'amidon.

On verse alors l'Iode dont on veut vérifier le titre à l'aide d'une burette, jusqu'à l'apparition de la coloration bleue.

Si la solution d'Iode est exactement N/10, on doit employer 10 cc d'I N/10.

Nous avons employé avec succès la liqueur de Baudoin-Lewin beaucoup plus stable :

Iodate de potassium pur	1,783 gr.
SO^4H^2 à 5 % en volume, Q.S.p.	1.000 cc.

1 cc de cette solution correspond à 5 cc I N/100 (l'iodure de potassium nécessaire à la libération de l'iode

$$IO^3K + 5\ IK + 6\ HCl \rightarrow 6\ ClK + 3\ H^2O + 6\ I$$

est fourni par l'iodomercurate. Sinon, on ajoute une petite quantité d'une solution de IK à 5 %).

A l'aide de ces deux solutions, nous avons préparé et contrôlé $S^2O^3Na^2$ N/10 :

Solution de NaOH pure :

Nous avons cherché à obtenir une solution de soude parfaitement pure, exempte de carbonate.

Soude pure en bâtons	200 grs
Eau distillée	200 cc

Le carbonate de soude étant très peu soluble dans la soude concentrée, il se dépose au bout de quelques jours au fur et à mesure de sa formation.

Pour obtenir une solution environ N, nous avons dilué cette solution :

Solution concentrée limpide de NaOH . .	70 cc
Eau distillée, Q.S.p.	1.000 cc

que nous avons titré par une solution acide N.

Suspension de SO^4Ba précipité :

Nous avons précipité une solution de Cl^2Ba par le sulfate de soude, en vertu de la réaction simple :

$$SO^4Na^2 + Cl^2Ba \rightarrow 2\ ClNa + SO^4Ba$$

Le précipité a été réalisé à froid, afin de l'obtenir presque colloïdal, décanté et lavé de nombreuses fois jusqu'à ce que les eaux de lavages ne précipitent plus par NO^3Ag.

Le lait obtenu a été homogénéisé et une partie connue a été desséchée à l'étuve, afin de connaître la concentration de la suspension. D'après ce chiffre, nous avons dilué le lait pour obtenir une suspension à 10 %.

Le SO^4Ba ainsi obtenu est presque colloïdal ; il est très adhérent au verre et une partie passe à travers les filtres ordinaires.

Empois d'amidon :

Préparé avec de l'amidon de pomme de terre dans l'eau distillée avec une trace de chlorure mercurique pour éviter les moisissures. Nous avons utilisé ce même empois durant huit mois sans qu'il subisse aucune altération, en le filtrant de temps à autre et conservé sous toluène.

Bain-Marie

Nous avons utilisé un bain-marie légèrement modifié afin d'obtenir une température absolument constante.

Le gaz n'étant plus actuellement de débit régulier, nous chauffons notre bain-marie à l'aide d'une résistance électrique entourée d'une couche d'amiante et d'un mandrin métallique, un rhéostat permettant d'obtenir des températures variant de 40° à 100°.

D'autre part, afin d'éviter une trop grande perte de chaleur, par la circulation d'eau, nous remplaçons juste suffisamment les pertes par évaporation à l'aide d'un récipient muni d'un robinet, lequel convenablement réglé, ne donne par le trop plein que quelques gouttes à la minute.

Etude théorique de la précision des résultats

Nous avons tout d'abord travaillé avec une solution de $S^2O^3Na^2$ N/10 à l'aide d'une burette de Mohr graduée en 1/10 de cc.

Il est fort satisfaisant avec un tel appareil d'admettre une appréciation du 1/20 de cc, la burette étant parfaitement sèche et propre, fréquemment lavée au mélange sulfochromique et abondamment rincée.

Nous avons cherché à nous rendre compte à combien pouvait correspondre cette approximation du 1/20 de cc en glucose.

Solution N° 1 : glucose à 0,5 p. mille. Prise d'essai de 10 cc, soit de 5 mgrs.

Solution N° 2 : glucose à 1 p. mille. Prise d'essai de 10 cc, soit de 10 mgrs.

Solution N° 3 : glucose à 2 p. mille. Prise d'essai de 10 cc, soit de 20 mgrs (Dans ce dernier cas, nous avions 10 cc I N/10).

SOLUTION N°	CC. $S^2O^3Na^2$ N/10 ÉCOULÉS	CC. I N/10 CONSOMMÉS	MGRS GLUCOSE DANS LA PRISE D'ESSAI	GRS GLUCOSE PAR LITRE
1	3,70	1,3	5,239	0,524
	3,75	1,25	5,037	0,504
	3,80	1,2	4,836	0,484
2	2,45	2,55	10,276	1.028
	2,50	2,50	10,075	1,008
	2,55	2,45	9,873	0,987
3	5,00	5,00	20,150	2,015
	5,05	4,95	19,948	1,995
	5,10	4,90	19,747	1,975

Nous constatons ainsi que l'appréciation de 1/20 de cc de $S^2O^3Na^2$ N/10 entraîne :

— pour une prise d'essai de 5 mgrs une approximation ou une possibilité d'erreur du 1/25 ;

— pour une prise d'essai de 10 mgrs du 1/50 ;

— pour une prise d'essai de 20 mgrs du 1/100.

Sans tenir compte des autres erreurs possibles d'expérience, une prise d'essai de 20 mgrs sortant déjà des limites que nous nous sommes données, puisqu'il nous faut, dans ce cas, ajouter 10 cc d'I N/10 au lieu de 5 cc.

On peut augmenter la précision de la méthode en utilisant une microburette de 2 cc au 1/ 50 de cc, ou bien une burette graduée au 1/20 de cc, avec une solution d'hyposulfite de soude N/100.

Il est nécessaire de terminer le bec de la microburette par un tube capillaire dont l'extrémité plonge, lors de toute addition de liquide, dans la solution à titrer.

Nous avons préféré utiliser les solutions N/100 de $S^2O^3Na^2$ et une burette graduée de 25 cc au 1/20 de cc. La solution de $S^2O^3Na^2$ N/100 étant toujours préparée extemporanément par dilution au 1/10 de la solution plus stable de $S^2O^3Na^2$ N/10 et vérifiée avec une solution d'iode N/10 dont 5 cc doivent exiger 50 cc d'hyposulfite de soude centinormal.

Etude du glucose

Nous sommes partis d'un échantillon de glucose pur RAL de la Maison Kühlmann, afin d'éviter d'avoir à purifier notre sucre, opération nécessitant de nombreuses et longues cristallisations.

Nous avons cependant étudié la pureté de ce produit, d'après les essais du Codex.

Une solution à 10 % additionnée de 0,1 cc d'ammoniaque diluée a donné une déviation polarimétrique sous 20 cm de 10° 30' d'où nous avons tiré l' αD

$$\alpha D = 52,5$$

un dosage par la méthode de Bertrand a également confirmé la pureté de ce produit.

Nous avons utilisé des solutions mères à 1 % conservées sous toluène afin d'en prolonger la validité.

Par dilution, il nous a été facile de préparer des solutions à 1, 2 et 4 p. mille.

Champ de la réaction :

Fleury admet que la réaction est possible lorsque les quantités de glucose dans la prise d'essai sont comprises entre 2,5 et 20 mgrs dans les conditions d'analyse qu'il propose. Il utilise pour titrer le mercure réduit 5 cc d'I N/10, lesquels (puisque 1 cc N/10 = 4,03 mgrs de glucose) correspondent théoriquement à 20,15 mgrs de glucose. Le volume d'iode utilisé devrait donc être suffisant pour le dosage de 20 mgrs de sucre.

Or, nous avons constaté dans des essais portant sur cette quantité que les résultats péchaient légèrement par défaut, malgré une pro-

longation du temps de contact de l'iode. Pour 5 minutes de contact, nous n'avons trouvé que 18,52 mgrs de glucose, et pour 7 minutes, 19,22 mgrs.

En effet, en vertu de la loi d'action de masse, les dernières traces d'iode ne réagissent plus que très lentement sur le mercure encore libre.

Nous avons repris l'expérience, mais en ajoutant cette fois-ci, 10 cc. I N/10 correspondant théoriquement à 40,30 mgrs de glucose, c'est-à-dire que nous nous sommes mis en présence d'un large excès d'iode. Le résultat, au bout d'un temps de contact normal de 5 minutes, a été de 20,14 mgrs de glucose, chiffre correct à 0,75 % près.

Fleury note que « si l'on constate avant ou après titrage de l'hyposulfite de soude que l'iode n'a pas dissout la totalité du Hg métallique, il suffit d'ajouter un nouveau volume mesuré de solution d'iode et de titrer l'excès ».

Or cette méthode se heurte à deux difficultés :

1. Les traces de mercure non dissoutes donnant une teinte grise sur le fond blanc de la suspension de SO^4Ba, se décèlent difficilement sur un fond jaune comme celui obtenu après l'addition de l'iode.

2. Nous verrons plus loin qu'une prolongation du contact de l'iode entraîne une erreur par excès due vraisemblablement à une réaction parasite sur la molécule même du glucide oxydé.

En résumé, il faut donc que la quantité d'iode N/10 mise en réaction soit nettement supérieure à la quantité théorique calculée.

Une série d'expériences nous a montré que dans les conditions proposées par Fleury, et en utilisant son coefficient, la précision optimum est obtenue pour 15 mgrs de glucose anhydre dans la prise d'essai.

Influence de la température sur la vitesse de réduction :

Nos essais ont été réalisés sur la quantité optimum de 15 mgrs.

Nous avons d'abord fait un essai à la température de 15°. La réaction abandonnée à elle même pendant 24 heures a montré que seuls 5,55 mgrs de glucose avaient été oxydés.

Nous avons ensuite étudié la réaction avec un bain-marie réglé à une température variable. Pour une durée de contact au bain-marie de 7 minutes comptées depuis la mise de la fiole à réaction dans le bain-marie, jusqu'au moment du refroidissement par un courant d'eau froide, nous avons trouvé les résultats suivants :

TEMPÉRATURE DU BAIN-MARIE	MGRS DE GLUCOSE OXYDÉS
50°	2,136
60°	2,61
70°	10,86
80°	14,99
90°	15,09
100°	15,09

La courbe correspondante sera reprise à propos de l'étude du lactose (Voir page 28).

La réduction, faible jusqu'à 60°, augmente rapidement vers 70° et devient maximum à partir de 80° ; à cette température, nous retrouvons les mêmes résultats que ceux indiqués par FLEURY et MARQUE.

N. B. — Nous avons fait plusieurs fois l'expérience en plaçant l'Erlenmeyer non plus au bain-marie, mais directement à feu nu. Les résultats sont très inconstants et présentent toujours une erreur par défaut. Pour 15 mgrs, nous avons obtenu des chiffres compris entre 13,09 et 14,18 mgrs. Une température plus élevée est donc préjudiciable à la bonne marche de la réaction.

En conclusion, le choix de la température du bain-marie doit se porter pour une durée de 7 minutes à des températures comprises entre 80 et 100°.

Action de la soude :

La réduction de l'iodomercurate de potassium par le groupement —CHO se réalise en milieu fortement alcalin.

FLEURY étudie l'influence de la concentration en alcali et recommande d'ajouter 5 cc de NaOH N.

Toujours avec des prises d'essai de 15 mgrs, nous avons obtenu les résultats suivants en faisant varier le nombre de cc NaOH N ajoutés :

cc NaOH N	MGRS GLUCOSE OXYDÉS
0	0
0,5	5,22
0,75	12,69
1	13,05
2	15,02
5	15,03
10	15,06

nous permettant de construire une courbe à comparer avec celle du lactose (Voir page 29).

Donc, la quantité minimum de NaOH N serait de 2 cc et une addition de 10 cc n'influerait pas sur le résultat. Avec un très grand excès, il y a jaunissement de la solution par caramélisation.

Influence de la concentration :

Fleury indique dans sa technique :

« Dans une fiole conique de 125 cc, mettre :

« Liqueur iodomercurielle ..... 5 cc.
« Solution NaOH N ..... 5 cc.
« Solution sucrée ..... 5 à 20 cc.
« Suspension SO^4Ba à 10 % ..... 5 cc.
« Eau distillée, Q.S.p. ..... 80 cc environ

Or, nous avons commencé à réaliser nos expériences en complétant sans précision à 80 cc à l'aide d'une éprouvette graduée. Des essais exécutés dans ces conditions, toutes choses égales d'ailleurs, nous donnaient des résultats oscillant autour du résultat cherché.

Nous avons alors pensé que devait intervenir d'une façon appréciable, la notion de concentration. Fait vérifié par les résultats suivants :

Nous avons fait plusieurs séries d'essais :

1) Liqueur iodomercurielle ..... 5 cc.
Solution NaOH N ..... 5 cc.
Glucose ..... 9 mgrs
Suspension SO^4Ba ..... 5 cc.
Eau distillée, Q. S. p. ..... 40 cc.

Addition après acidification de 5 cc I N/10. Il faut 40 cc $S^2O^3Na^2$ N/100 pour titrer l'iode en excès.

Donc, 1 cc I N/10 correspond à 9 mgrs de glucose.

2) Même expérience, mais avec 11 mgrs de glucose. $S^2O^3Na^2$ utilisé : 37,95 cc.

Donc, 1 cc I N/10 correspond à 9,127 mgrs glucose.

3) Même expérience avec 13 mgrs de glucose. $S^2O^3Na^2$ utilisé : 35,70 cc.

Donc, 1 cc I N/10 correspond à 9,09 de glucose.

Nous voyons ainsi que le coefficient proposé par FLEURY :

1 cc I N/10 → 4,03 mgrs de glucose

n'est plus applicable lorsqu'on complète le volume du liquide à 40 cc et non plus à 80 cc.

Nous obtenons ainsi trois valeurs :

9
9,127 } Moyenne : 9.072.
9,09

Nous avons fait, d'autre part, une autre série, toujours avec un volume total de 40 cc, mais avec des quantités de glucose de 28, 30 et 32 mgrs.

Nous avons obtenu des fixations d'iode de :

3,625 cc 3,805 cc 4,04 cc

correspondant à des coefficients :

7,707
7,884 } Moyenne : 7,837.
7,920

Donc, le coefficient de 4,03, valable pour un volume de 80 cc n'est plus exact pour 40 cc. Le nouveau coefficient à cette concentration ne semble pas d'ailleurs être fixe et varie avec la quantité de glucose en expérience.

Influence du temps d'action de l'iode N/10 :

Liqueur iodomercurielle	5 cc.
Solution NaOH N	5 cc.
Glucose	15 mgrs
Suspension SO^4Ba à 10 %	5 cc.
Eau distillée, Q. S. p.	80 cc.

Après 7 minutes au bain-marie à 100°, refroidir dans un courant d'eau froide. Acidifier par 5 cc SO^4H^2 à 20 % en volume. Après refroidissement, ajouter 5 cc I N/10 que l'on laisse agir un temps variable :

Nous avons utilisé de l'iode N/10 (correction 0,998) titré avec de l'hyposulfite de soude lui correspondant exactement :

5 cc I N/10, correction 0,998 = 50 cc $S^2O^3Na^2$ utilisé.

Nous avons obtenu suivant les temps T :

T	cc I N/10 consommés	cc. corrigés	mgrs de glucose trouvés
30"	3,66	3,65	14,70
1'	3,7	3,69	14,88
2'	3,715	3,707	14,95
5'	3,75	3,74	15,08
10'	3,78	3,77	15,19
15'	3,78	3,77	15,19
30'	3,89	3,88	15,63
6 h.	4,065	4,057	16,35

(Voir page 32).

Nous voyons ainsi que l'action de l'iode, très importante au cours des premières secondes de contact, est complète entre 2 et 5 minutes.

Les quatre derniers résultats, trop élevés, ne sont pas dus à une absorption d'iode par les réactifs. Un essai témoin, à blanc, sans glucose, dans les mêmes conditions fait retrouver intégralement l'iode mis en expérience. Par contre, un essai témoin, sans iodomercurate montre une très légère absorption au bout de 10 minutes de contact.

Donc, après 5 minutes, vient s'additionner une réaction parasite, due vraisemblablement à l'excès d'iode sur la molécule oxydée de glucose.

De tels faits ont été étudiés pour l'action de l'iode en milieu alcalin, en particulier par Bougault et Pauchard, alors que dans le cas présent, nous nous trouvons en milieu acide, mais en présence de sels de mercure pouvant agir comme catalyseurs.

Nous avons cherché à éliminer cette réaction parasite en séparant le précipité SO^4Ba-Hg par centrifugation. La molécule de glucose oxydée par HgI^4K^2 n'interviendrait donc plus et l'action de l'iode ne porterait plus que sur le Hg ainsi séparé, éliminant de la sorte toute réaction parasite.

De nombreuses difficultés se sont alors présentées :

Tout d'abord, ne disposant que d'une centrifugeuse à tubes de 60 cc et le volume mis en œuvre étant de 80 cc, il nous a fallu centrifuger dans deux tubes.

Or, le précipité de SO^4Ba-Hg adhère fortement aux parois de l'Erlenmeyer et ne peut être complètement enlevé par un jet de pissette (l'emploi d'un agitateur muni d'un tube de caoutchouc n'étant pas à recommander introduisant des matières organiques étrangères). Il reste toujours des parcelles de précipité adhérentes aux parois, entraînant des erreurs par défaut.

D'autre part, il est nécessaire, après centrifugation à 1.200 tours, lavage et recentrifugation, de faire deux dosages par $S^2O^3Na^2$, un dans chaque tube, augmentant ainsi les erreurs.

Enfin, les tubes fatiguent beaucoup avec un précipité aussi dense. Ayant employé des tubes en verre ordinaire, nous avons constaté qu'au bout de quelques centrifugations, le fond se détache la nuit, par suite des variations de température.

Nous avons cherché à pallier partiellement à l'inconvénient du trop grand volume de liquide en laissant décanter 12 heures à l'obscurité, et en reprenant le précipité par une trentaine de cc d'eau distillée, puis centrifugation, lavage et recentrifugation.

Les résultats n'ont pas été satisfaisants, les pertes restant élevées.

Enfin, nous avons essayé d'opérer sur un volume de liquide moindre, sur 40 cc.

Nous avons placé dans un tube à centrifuger :

Réactif iodomercurique	5 cc.
NaOH N	5 cc.
Solution sucrée.	
Suspension SO^4Ba	5 cc
Eau distillée, Q. S. p.	40 cc.

Le tube est placé directement au bain-marie à 100° pendant 8 minutes (au lieu de 7, du fait de l'épaisseur du verre). On le refroidit sous un courant d'eau et centrifuge 5 minutes à 1.200 tours ; puis on décante, lave avec 20 cc d'eau distillée.

Une nouvelle centrifugation, 5 minutes à 1.200 tours est réalisée.

Après décantation, on ajoute 5 cc I N/10. On laisse agir 5 minutes et on titre dans le tube avec $S^2O^3Na^2$ N/100.

Le cœfficient 1 cc I N/10 = 4,03 mgrs de glucose, n'est plus applicable.

Nous avons donc cherché celui correspondant aux nouvelles conditions expérimentales.

Nous avons constaté qu'à ce taux de concentration, la réduction n'est plus linéaire, comme nous l'avions entrevu dans un paragraphe précédent. Le coefficient varie dans d'assez fortes proportions suivant la quantité de glucose en expérience.

Nous avons donc abandonné cette modification possible.

En conclusion de ce chapitre :

Pour obtenir dans les dosages une précision toujours supérieure au 1/100 et la plupart du temps voisine de 1/200, les conditions suivantes doivent être observées :

— Prendre dans la prise d'essai une quantité de glucose, la plus voisine que possible de 15 mgrs.

— N'utiliser qu'un iodomercurate fraîchement préparé et conservé à l'obscurité dans un flacon fortement teinté et bien bouché.

— Compléter exactement à 80 cc.

— Porter l'Erlenmeyer 7 minutes exactement au bain-marie à 100°.

— Ajouter 5 cc d'I N/10 exactement mesurés à l'aide d'une pipette vérifiée et rejaugée avec précision.

— Laisser en contact exactement le temps calculé à la page 31.

— Titrer aussitôt et rapidement avec $S^2O^3Na^2$ N/100 en présence d'empois d'amidon.

Nous avons préparé une solution de glucose en en dissolvant 1,40 gr. (pesés au trébuchet) dans un litre d'eau distillée.

Nous avons fait une série de 4 dosages exactement semblables sur 10 cc de la solution :

Exp. 1 : $S^2O^3Na^2$ N/100 15,43 cc.
Iode consommé : 3,457 cc.
Glucose : 13,933 mgrs.

Exp. 2 : $S^2O^3Na^2$ N/100 : 15,650 cc.
Iode consommé : 3,435 cc.
Glucose : 13,843 mgrs.

Exp. 3 : $S^2O^3Na^2$ N/100 : 15,53 cc.
Iode consommé : 3,447 cc.
Glucose : 13,893 mgrs.

Exp. 4 : $S^2O^3Na^2$ N/100 : 15,650 cc.
Iode consommé : 3,435 cc.
Glucose : 13,843 mgrs.

Enfin, dans une cinquième expérience, nous avons dosé 20 cc de la même solution sucrée par la méthode de BERTRAND. Nous avons obtenu 5,5 cc de MnO^4K de titre :

1 cc MnO^4K → 9,96 mgrs de Cu.

Donc, 5,5 cc correspondent à 54,78 mgrs de Cu.

Ce qui nous donne en glucose : 27,72 mgrs dans la prise d'essai, correspondant à une teneur en glucose de :

1,386 gr. par litre.

Or les résultats obtenus par iodomercurométrie :

1,393 par litre
1,384 —
1,389 —
1,384 —

montrent que la différence entre les deux valeurs extrêmes est voisine du 1/140 de la valeur totale et sont parfaitement en accord avec les résultats du dosage par la méthode de BERTRAND.

ETUDE DU LACTOSE

Nous avons utilisé du lactose de la marque RAL.

Nous en avons fait une solution mère à 2 % conservée sous toluène.

A partir de cette solution, par dilution au 1/10, nous avons obtenu une solution à 2/1.000.

dont 1 cc = 2 mgrs de lactose RAL.

D'autre part, par une dilution au 1/5, nous avons obtenu une solution à 4/1.000

dont 1 cc = 4 mgrs de lactose RAL.

Nous avons titré ces solutions par la méthode de BERTRAND (1 cc MnO^4K = 9,9986 mgrs de Cu).

— 10 cc de solution à 2 p. 1.000 nous ont donné 2,75 cc de MnO^4K, correspondant, corrections faites, à 19,535 mgrs de lactose anhydre.

— 20 cc de solution à 2 p. 1.000 nous ont donné 5,35 cc de MnO^4K, correspondant à 38,57 mgrs de loctase anhydre.

— 20 cc de solution à 4 p. 1.000 nous ont donné 10,25 cc de MnO^4K, correspondant à 77,66 mgrs de lactose anhydre.

D'après ces trois résultats, nous avons calculé le pourcentage du lactose RAL en sucre pur anhydre.

Nous avons trouvé 96,97 %.

Donc, une solution de 100 mgrs de lactose RAL correspond à :

96,97 mgrs de lactose anhydre
102,07 mgrs de lactose hydraté.

C'est sur une solution de ce type que nous avons travaillé, en suivant le même plan que nous avons employé pour le glucose.

Champ de la réaction :

Liqueur iodomercurielle	5 cc.
Solution NaOH N	5 cc.
Lactose	variable.
Suspension de SO^4Ba	5 cc.
Eau distillée, Q. S. p.	80 cc.

Bain-marie : 7 minutes.

Après refroidissement et acidification, addition de 5 cc I N/10.

Contact : 5 minutes.

Titrage : $S^2O^3Na^2$ N/100.

Dans de telles conditions, les valeurs proposées par FLEURY sont :

1 cc I N/10 → 5,04 lactose anhydre

→ 5,305 lactose hydraté.

Théoriquement, les 5 cc I N/10 correspondent à 26,5 mgrs de lactose hydraté.

Nous avons effectué le dosage de 25 mgrs de lactose hydraté. Comme pour le glucose, une quantité d'iode trop peu supérieure à la quantité théorique nous a donné une erreur par défaut. Nous avons seulement obtenu, pour 5 cc d'iode N/10 et pour un contact de 5 minutes, 22,32 mgrs de lactose hydraté au lieu de 25 mgrs.

Cette erreur provenait bien d'une quantité insuffisante d'iode, car l'expérience, reprise avec 10 cc d'I N/10 dans les mêmes conditions, nous a donné 24,74 mgrs de lactose hydraté, résultat correct à 1 % près.

Nous avons pu constater par la suite que les meilleurs dosages étaient obtenus pour des quantités de lactose comprises entre 15 et 20 mgrs, limites optima.

Toutes les expériences de l'étude systématique ont été réalisées comme pour le glucose, sur 15 mgrs de sucre.

Influence de la température sur la vitesse de réduction :

— Essai à 20° :

L'Erlenmeyer a été abandonné 24 heures à la température du laboratoire.

Sur les 15 mgrs, 4,45 mgrs de lactose étaient oxydés.

— Bain-marie à température variable :

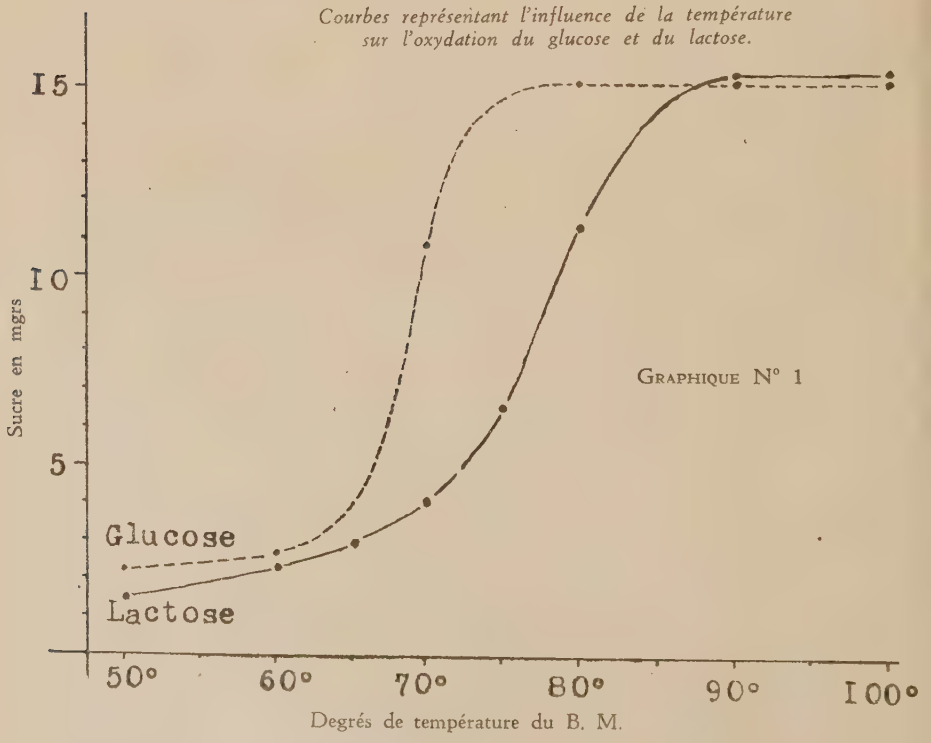
Pour un temps de 7 minutes comptées depuis la mise de l'Erlenmeyer dans le bain-marie jusqu'à son refroidissement sous courant d'eau froide :

TEMPÉRATURE DU BAIN-MARIE	CC I N/10 CONSOMMÉS	MGRS LACTOSE HYDRATÉ
50°	0,28	1,48
60°	0,415	2,20
65°	0,56	2,97
70°	0,755	4,00
75°	1,25	6,63
80°	2,15	11,40
85°	2,71	14,37
90°	2,90	15,38
100°	2,90	15,38

Nous avons travaillé sur une solution à 1 % de lactose RAL diluée au 1/10. Chaque expérience a été faite avec 15 cc de cette dilution, contenant donc :

$$\frac{1{,}0207 \times 15}{1.000}$$ soit : 15,31 de lactose hydraté.

Courbes représentant l'influence de la température sur l'oxydation du glucose et du lactose.



GRAPHIQUE N° 1

Nous voyons ainsi que l'oxydation du lactose s'amorce à une température plus élevée que celle du glucose, environ d'une dizaine de degrés et la réaction n'est complète qu'à partir de 90° au lieu des 80° du glucose.

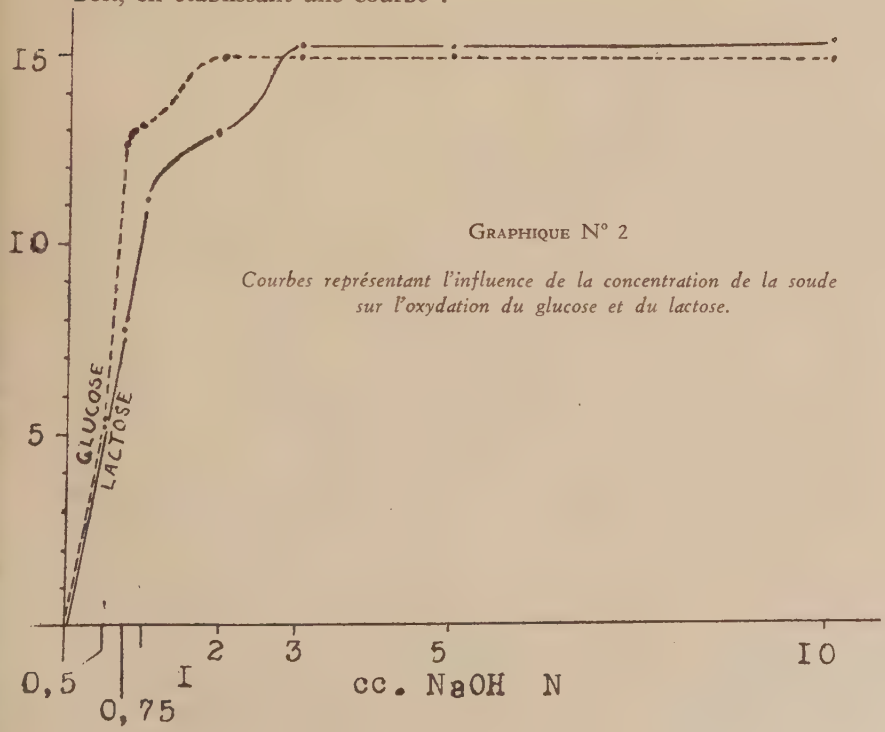
Action de la soude :

Liqueur iodomercurielle	5 cc.
NaOH N	variable.
Lactose hydraté	15,31 mgrs.
Suspension de SO^4Ba	5 cc.
Eau distillée, Q. S. p.	80 cc.

Nous avons obtenu :

cc NaOH N	MGRS DE LACTOSE OXYDÉS
0	0
0,5	5,12
0,75	7,69
1	11,14
2	12,99
3	15,38
5	15,38
10	15,65

Soit, en établissant une courbe :



GRAPHIQUE N° 2

Courbes représentant l'influence de la concentration de la soude sur l'oxydation du glucose et du lactose.

Il faut donc une quantité moindre de soude pour le glucose que pour le lactose. Pour ce dernier, la réaction n'est pas complète avec 2 cc de soude, alors qu'elle devient constante pour le glucose.

L'influence de la concentration en alcali est manifestement plus prononcée dans le cas du lactose que dans celui du glucose.

Influence du temps d'action de l'iode N/10 :

A partir du lactose RAL, nous avons préparé une solution :

Lactose RAL : 10 grs très exactement pesés.
Eau distillée, Q. S. p. : 1 litre.

Après quoi, nous avons ajouté au-dessus du trait de jauge, à la pipette, 20,7 cc d'eau distillée.

Comme 10 grs de lactose RAL → 10,207 grs de lactose hydraté, cette solution de 1020,7 cc contenant 10,207 gr de lactose hydraté correspond à une solution à 1 p. mille de lactose hydraté.

Liqueur iodomercurielle	5 cc.
Solution NaOH N	5 cc.
Lactose hydraté	15 mgrs
Suspension SO^4Ba	5 cc.
Eau distillée, Q.S.p.	80 cc.

7 minutes au bain-marie.

Refroidir. Acidifier par 5 cc SO^4H^2 20 % en volume.

Ajouter 5 cc I N/10 que l'on fait agir pendant un temps variable.

Nous avons utilisé de l'iode N/10 (correction 0,980) dont nous titrons l'excès par $S^2O^3Na^2$ lui correspondant exactement :

5 cc I N/10, correction 0,980 → 50 cc $S^2O^3Na^2$ utilisé.

Nous avons obtenu suivant le temps T :

T	cc I N/10 consommés	après correction	mgrs de lactose trouvés
30"	2,72	2,665	14,14
1'	2,77	2,714	14,39
2'	2,80	2,744	14,65
5'	2,86	2,80	14,85
10'	2,90	2,84	15,07
15'	2,95	2,89	15,33
30'	3,015	2,955	15,67
6 h.	3,13	3,067	16,27

Nous avons cherché à mettre bien en relief les résultats de ces

expériences. Nous avons porté en abcisse les mgrs de glucide trouvés de 14 à 16,5 mgrs, de façon à bien étendre la courbe.

D'autre part, nous avons pris en ordonnée les logarithmes des temps d'action de l'iode N/10, en fixant 30 secondes comme l'unité de temps :

TEMPS D'ACTION	30"	1'	2'	5'	10'	15'	30'	6 h.
NOMBRE D'UNITÉS	1	2	4	10	20	30	60	720
LOGARITHMES	0	0,3	0,6	1	1,3	1,43	1,77	2,85

Nous constatons ainsi que pendant les 30 premières secondes, la réaction de l'iode sur le mercure va jusqu'à sa presque totalité. La courbe s'infléchit à partir des trente secondes pour passer par les 15 mgrs de lactose en expérience vers le point 1,2 de l'échelle logarithmique, alors que la courbe du glucose coupe la ligne des 15 mgrs au point 0,66 de l'échelle.

Les nombres correspondants à ces logarithmes sont :

1,2 est le logarithme de 16, soit 8 minutes pour le lactose

0,66 est le logarithme de 4,66, soit 2'20" pour le glucose.

Si nous voulons obtenir des dosages exacts, il nous faudrait donc laisser agir l'iode 2 minutes et 20 secondes pour le glucose et 8 minutes pour le lactose.

Pour un mélange de ces deux sucres, nous devons avoir toujours une erreur.

Supposons une solution contenant 15 mgrs de glucose et 15 mgrs de lactose.

Au bout de 2'20" nous avons bien 15 mgrs de glucose oxydés, mais seulement 14,7 mgrs de lactose environ. D'où erreur par défaut.

Par contre, au bout de 8 minutes, si nous avons bien 15 mgrs de lactose, l'action parasite aura fait dépasser la valeur correspondante du glucose à 15,15 mgrs environ. D'où erreur par excès.

Si nous prenons un temps d'action de 5 minutes, nous aurions :

15,08 de glucose

14,85 de lactose.

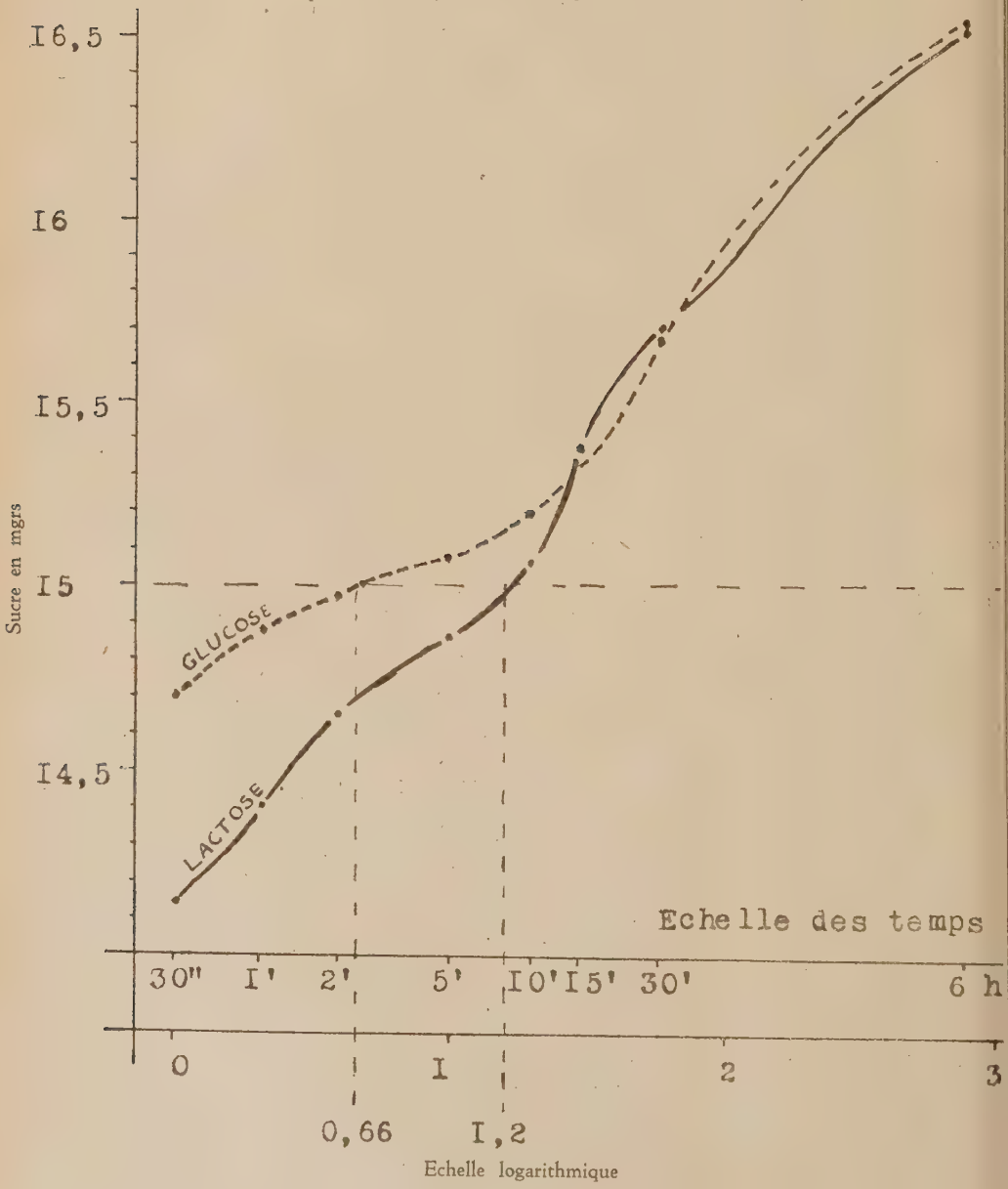
Soit une erreur de + 0,54 pour le glucose et de — 1 % pour le lactose.

Remarque. — On peut facilement faire intervenir ces corrections dans le cas d'un dosage mixte de glucose et de lactose. On peut, dans un premier dosage, noter la prédominance de l'un des deux sucres et recommencer le dosage par iodomercurométrie en utilisant un temps

d'action de l'Iode voisin de 2 minutes et 20 secondes s'il y a prédominance de glucose, ou voisin de 8 minutes si, au contraire, il y a excès de lactose.

GRAPHIQUE N° 3

Courbes représentant l'influence du temps sur la fixation de l'iode



CHAPITRE II

Étude de l'Iodométrie

Bougault, en 1917 (8), propose une nouvelle méthode de dosage des sucres aldéhydiques. Ces sucres sont oxydés en acides monobasiques par une solution alcaline d'iode, d'après la réaction :

$$R—CHO + H^2O + 2\,I \rightarrow R—COOH + 2\,IH$$

Il constate que l'oxydation du glucose est complète en 30 minutes, mais que l'absorption d'iode continue, attribuée à son action sur l'ensemble des fonctions alcool ; et que, d'autre part, l'oxydation parasite de la première demi-heure est plus importante que celle de la seconde. Pour en tenir compte, il prend le chiffre de la deuxième demi-heure, qu'il augmente arbitrairement du 1/5 et qu'il retranche du chiffre trouvé.

Le réactif alcalinisant qu'il emploie est un mélange de carbonate et de bicarbonate de soude.

Hinton et Macara, en 1924 (9), reprennent la technique en remplaçant le carbonate de soude par la soude N/2 et en opérant avec de l'I N/200. Ils maintiennent 10 minutes en contact à 17°5 et titrent l'iode en excès par $S^2O^3Na^2$ en milieu fortement acide.

Ils ne tiennent pas compte de la réaction parasite observée par Bougault. Ils admettent que la réaction est totale dans les conditions d'expérience et que :

1 mol. de sucre → 2 mol. d'I

cad : 1,41 gr. I → 1 gr. de glucose

0,705 gr. I → 1 gr. de lactose hydraté.

Pauchard, en 1927 (10), utilise une nouvelle méthode. Il mélange dans un flacon muni d'un bouchon de verre un volume exactement mesuré de solution titrée d'iode (à 20 gr. d'I p. mille environ) et un volume exactement mesuré de sucre à doser. Le sucre et l'iode doivent être dans ce mélange en proportions telles que la quantité d'iode soit égale à environ 3 fois la quantité théorique nécessaire.

Pour la commodité du dosage, il emploie un volume de solution d'iode voisin de 10 cc et par suite, un volume de solution sucrée (5 à 10 cc) contenant environ 0,05 gr. de sucre aldéhydique si ce sucre a un poids moléculaire voisin de 180 ; ou de 0,10 gr. si le poids est de 360, et ainsi proportionnellement pour des sucres à poids moléculaire plus élevé.

Il place ensuite le flacon contenant le mélange de solution d'iode et de solution de sucre dans la glace fondante, en même temps qu'un autre flacon contenant une solution de carbonate de soude cristallisé à 15 %. Lorsque la température au sein des liquides s'est abaissée à 1° environ, il ajoute dans le flacon du mélange une quantité de CO^3Na^2 égale au volume d'iode employé.

Il laisse en contact 1 heure pour le glucose et 1 heure 1/4 pour le lactose (il note bien d'ailleurs qu'on peut sans inconvénient laisser plus longtemps le mélange dans la glace). Au bout de ce temps, après acidification par HCl (10 cc environ d'une solution à 15 % d'HCl officinal si l'on a employé 10 cc de CO^3Na^2), il dose l'excès d'iode par une solution de S^2O^3 Na2 titrée (à 10 gr. pour 1.000 environ). Les calculs sont faits d'après la réaction totale.

Dumazert (11), en 1934, constate que la vitesse de la réaction qui aboutit à la formation d'hypoiodite et d'iodate d'après les équations :

$$I^2 + 2\ NaOH \rightarrow I\ ONa + NaI + H^2O$$

$$3\ I^2 + 6\ NaOH \rightarrow I\ O^3Na + 5\ NaI + 3\ H^2O$$

est fonction de la température.

Si la température est trop basse, l'oxydation de l'aldose risque de ne pas être complète. Par contre, si elle est trop élevée, il y a augmentation de l'absorption de l'iode par CO^3Na^2. La libération de l'iode ne devient donc possible que par une forte addition d'acide, ce qui n'est pas sans inconvénient (voir plus loin).

D'autre part, 30 minutes est un minimum pour l'oxydation complète de mgrs d'aldose. Un temps plus long provoquerait une telle absorption d'iode. Il suffirait a priori d'acidifier plus fortement, mais alors, la réaction devient réversible ; IH s'oxyde à l'air :

$$4\ IH + O^2 \rightarrow 2\ H^2O + 2\ I^2$$

Dumazert évite l'absorption alcaline de l'iode en substituant un autre alcanisant au CO^3Na^2. Il propose son réactif A possédant la

propriété de ne pas fixer l'iode irréversiblement, et cela malgré qu'il réalise un milieu plus alcalin que le carbonate de soude, pH 11,25 au lieu de 10,35 pour le carbonate.

Réactif A	Sol. PO^4Na^2H décimolaire (17,8 p. mille).	60 cc.
	Sol. NaOH N/10	30 cc.
	Eau distillée, Q. S. p.	100 cc.

D'autre part, il cherche à obtenir une meilleure libération de l'iode en fin d'opération par une acidification plus énergique, évitant l'oxydation de l'iode en milieu fortement acide, en repassant en milieu neutre immédiatement après acidification. Il remplace l'acidité ionique élevée de SO^4H^2 par la faible acidité ionique d'un acide faible : l'acide borique, laquelle est encore atténuée par le système tampon de la solution phosphatée.

Le titrage par $S^2O^3Na^2$ se fait donc dans les meilleures conditions, c'est-à-dire en milieu neutre ou faiblement acide.

Sa méthode lui permet de doser des quantités de sucre comprises entre 0,5 et 3 mgrs.

Nous avons légèrement modifié la technique pour pouvoir doser des quantités d'aldose voisines de 10 mgrs et nous proposons le mode opératoire suivant :

Dans un flacon d'Erlenmeyer, à large ouverture, de 60 cc, bouchant émeri, introduire :

(1)	Réactif A	15 cc.
	Aldose en solution	M cc (3 à 15 mgrs).
	Iode N/10	5 cc.

Dans les mêmes conditions, préparer un essai témoin :

(2)	Réactif A	15 cc.
	Eau distillée	M cc.
	Iode N/10	5 cc.

Abandonner 1 heure à la température du laboratoire.

Acidifier par :

SO^4H^2 N ..... 6 cc.

et ajouter immédiatement après :

Réactif B (Borate Na à 4 %) ..... 24 cc.

Enfin, titrer par $S^2O^3Na^2$ N/100.

Dans ces conditions :

1 cc I N/10 correspond à 18 mgrs de lactose hydraté.

1 cc I N/10 correspond à 9 mgrs de glucose anhydre.

Si N est le nombre de cc de $S^2O^3Na^2$ N/100 pour l'essai à blanc, et n celui relatif à l'essai sur l'aldose, on a :

$$9 \frac{(N - n)}{10} \text{ mgrs glucose anhydre}$$

$$\text{et } 18 \frac{(N - n)}{10} \text{ mgrs lactose hydraté}$$

dans la prise d'essai.

CHAPITRE III

Essai d'entraînement des sucres (glucose et lactose) en vue d'un isolement d'un liquide biologique et dosage ultérieur par chromométrie

Nous avons été attiré par une méthode d'oxydation qui donne actuellement d'excellents résultats pour de nombreux dosages biologiques : l'oxydation sulfochromique.

Cuny et Robert (12), en 1931), proposent un dosage de l'urée sanguine. Ils précipitent normalement l'urée par une solution de xanthydrol et font agir à ébullition sur le précipité séparé et soigneusement lavé, une solution à parties égales de $Cr^2O^7K^2$ N/10 et SO^4H^2 pur. Ils dosent l'excès de $Cr^2O^7K^2$ par libération d'iode d'une solution d'iodure de potassium et titrage par $S^2O^3Na^2$.

Cordebard (13) en 1941 étudie un dosage des proteides. Il insolubilise l'albumine urinaire ou du L.C.R. dans un tube à centrifuger, par un mélange à parties égales de métaphosphate de soude à 5 % et d'une solution de 20 grs de sulfate de soude cristallisé dans 100 cc. SO4H2 N. Le culot de centrifugation est soigneusement débarrassé des eaux-mères pouvant contenir des substances réductrices, par une liqueur comparable à celle des eaux-mères.

Après une nouvelle centrifugation, il oxyde au B.M., dans le tube à centrifuger même, par deux cc d'une solution de $Cr^2O^7K^2$ à 49 p. mille en présence de 5 cc. SO^4H^2 pur. Il titre par IK et $S^2O^3Na^2$ N/10.

Enfin, Weiskopf (14) en 1942 dose le cholestérol sanguin en oxydant le complèxe cholestérol-digitonoside soigneusement précipité, séparé et lavé, par une solution de $Cr^2O^7K^2$ N/2 et SO^4H^2 de façon à être en présence de 70 % de SO^4H^2. Il titre par le ferrocyanure de potassium et la diphénylbenzidine.

Cordebard a étudié en 1922 (15) les substances complètement oxydables par le mélange chronique, comme les sucres et ceux qui nous intéressent : le glucose et le lactose.

Ces substances sont rapidement tronsformées en leurs produits ultimes d'oxydation, de telle sorte que l'opération peut se faire dans un ballon, en portant à Eb. pendant très peu de temps le produit dissous dans le mélange chromique contenant 50 % SO^4H^2 en volume.

L'oxydation est souvent si facile que l'élévation spontanée de température provoquée par l'addition de SO^4H^2 suffit à la combustion presque complète du glucide. La température augmente en effet aux environs de 100-110° en même temps qu'il se produit un vif engagement gazeux et que la coloration jaune-rouge du mélange passe au jaune-vert.

Pour parfaire l'opération, il est prudent de porter pendant quelques instants à l'ébullition (environ 1 minute) en s'assurant que l'on n'a pas dépassé 180°. En effet, la mise en liberté d'oxygène aux dépens de $Cr^2O^7K^2$ en milieu SO^4H^2 ayant lieu à 185°, il importe que cette température ne soit pas atteinte sous peine de fausser les résultats.

Pour doser le $Cr^2O^7K^2$ non réduit, Cordebard recommande de titrer la solution refroidie et étendue d'eau par une solution de sulfate ferreux ammoniacal N/10, jusqu'à l'apparition d'une teinte vert-bleu franche. Une goutte de liquide portée au contact de ferricyanure de potassium à 1 % doit donner une coloration bleu intense.

Les résultats qu'il obtient sont résumés dans le tableau suivant :

	GLUCOSE	LACTOSE HYDRATÉ
Atomes d'O nécessaires à l'oxydation d'une mol.	12	24
1 cc $Cr^2O^7K^2$ N correspond	7,5 mgrs	7,5 mgrs
Nombre de cc de $Cr^2O^7K^2$ N réduits par 0,10 gr. de produit :		
théoriquement	13,33 cc	13,33 cc
expérimentalement	13,30 cc	13,30 cc
Poids calculé de produit correspondant à une prise d'essai de 0,1 gr.	0,0997 gr.	0,0997 gr.

Mais cette méthode, exacte lorsqu'il s'agit d'une solution de sucre pur, de glucose par exemple, soulève de grandes difficultés lorsqu'on veut l'appliquer au dosage des glucides dans les liquides biologiques (16).

Pourtant, Polonowski et Lespagnol (17) indiquent un microdosage du lactose dans le lait. Ils opèrent sur un demi-cc. de lait défé-

qué au sous-acétate de plomb et dans les conditions optima d'oxydation:

1° Mélange égal de solution de $Cr^2O^7K^2$ N/10 et SO^4H^2 concentré;

2° Température de 100° ;

3° Une heure d'oxydation.

Ils constatent que les résultats ne peuvent être exacts qu'à condition de prendre comme témoin d'oxydation la moyenne arithmétique de deux dosages à blanc effectués avec la solution sulfochromique, l'un après avoir maintenu le mélange à la température ambiante, l'autre après avoir porté une heure à 100°.

Leurs résultats concorderaient à 0,25 % près avec ceux des micro-dosages classiques.

Donc, si nous voulons une technique exacte, il nous faut chercher à obtenir nos glucides à l'état pur, exempts de tout autre matière organique, soit comme pour l'urée, les protéides et le cholestérol fixés sur un support inerte, minéral par exemple, ou à l'état d'un complexe insoluble nettement défini.

Salkowski en 1879 montra que si l'on ajoute à une solution de glucose un mélange de SO^4Cu + NaOH, on peut obtenir dans des conditions déterminées, un précipité qui contient la presque totalité du glucose.

Cette réaction fut utilisée par Van Slyke en 1917 (18) dans son procédé pour le dosage de l'acide B-oxybutyrique de l'urine des diabétiques, pour éliminer le glucose, mais en remplaçant la soude par un lait de chaux.

En 1926, Bissinger (19) préconise l'emploi de la technique à la chaux de Van Slyke pour isoler le glucose et le lévulose d'une solution et récupère ainsi en opérant vers 0° de 97 à 98 % de sucre.

Nous nous sommes inspiré de la technique de Van Slyke et avons réalisé les expériences suivantes :

1° Avec une solution à 20 p. mille de glucose ; 25 cc de cette solution, soit 500 mgrs de glucose ont été versés dans un ballon jaugé de 150 cc.

Nous y avons ajouté 50 cc. de SO^4Cu à 20 % et par petites portions en agitant à chaque addition 50 cc. de lait de chaux à 10 %.

Nous avons abandonné 30 minutes au repos ; le glucose formant lentement, avec le complexe très alcalin chaux-hydrate de cuivre, un composé insoluble. Après filtration, nous avons prélevé 20 cc. de ce

filtrat que nous avons dosé par la méthode de BERTRAND, avec une solution de MnO^4K, dont :

1 cc. → 9,98 mgrs de Cu

Nous avons obtenu 4,15 cc. de MnO^4K, soit 41,41 mgrs de Cu ce qui correspond à :

20,16 mgrs de glucose.

Donc, sur les 500 mgrs mis en expérience, 162 mgrs sont restés dans la solution sans être entraînés.

2° Avec une solution de glucose à 10 p. mille dans les mêmes conditions, nous avons effectué le mélange suivant :

Solution de glucose	25 cc soit 250 mgrs
SO^4Cu à 20 %	50 cc
$Ca(OH)^2$ à 10 %	50 cc
H^2O distillée Q.S.p.	150 cc.

Pour 20 cc. de filtrat, nous avons obtenu :

2.65 cc. de MnO^4K correspondant à 26,45 mgrs de Cu
Soit 13,07 mgrs de glucose.

Donc, sur les 250 mgrs en expérience, 98 mgrs sont restés dans la solution, sans être entraînés.

3° Avec une solution de glucose à 5 p. mille :

Solution de glucose	25 cc soit 125 mgrs
SO^4Cu à 20 %	50 cc.
$Ca(OH)^2$ à 10 %	50 cc.
H^2O distillée Q.S.p.	150 cc.

Pour 20 cc. de filtrat, nous avons obtenu : 1,8 cc. MnO^4K correspondant à une quantité de Cu ne se trouvant plus sur les tables de BERTRAND.

Nous avons recommencé en doublant les proportions :

Filtrat	40 cc.
Liqueur A	40 cc.
Liqueur B	40 cc.

Nous avons trouvé 3,55 cc. de MnO^4K, soit 35,43 mgrs Cu et 17,6 mgrs de glucose.

Donc, sur les 125 mgrs de glucose en expérience, 66 n'ont pas été entraînés.

4° Avec une solution de glucose à 2 p. mille

Solution de glucose	25 cc. soit 50 mgrs
SO^4Cu à 20 %	50 cc.
$Ca(OH)^2$ à 10 %	50 cc.
H^2O Q.S. p	150 cc.

Le dosage du glucose resté en solution a été fait cette fois par la micro-méthode de SAINT-RAT, un BERTRAND modifié, utilisant la solution de MnO^4K diluée au 1/10 :

1 cc MnO^4K → 0,998 Cu

Filtrat	5 cc.
Liqueur A	5 cc.
Liqueur B	5 cc.

Nous obtenons 3,2 cc. MnO^4K B/10, correspondant à 3,19 mgrs de Cu, soit 1,19 mgrs de glucose.

Ce qui porte le glucose non entraîné à 35,7 mgrs.

5° Avec une solution à 1/1.000 :

Solution de glucose 25 cc. soit 25 mgrs traités dans les mêmes conditions.

Nous avons obtenu par la méthode de SAINT-RAT avec 5 cc de filtrat 2,8 cc MnO^4K B/10 soit environ 1 mgr (?) de glucose.

Il ne semble pas y avoir eu le moindre entraînement.

Soient les résultats obtenus :

	NOMBRE DE MGRS DANS LA PRISE	MGRS NON ENTRAINÉS	ENTRAINEMENT
Sol. à 20 p. mille.	500	162	68 %
Sol. à 10 p. mille.	250	98	61 %
Sol. à 5 p. mille.	125	66	47 %
Sol. à 2 p. mille.	50	35,7	28 %
Sol. à 1 p. mille.	25	25	0 %

Ainsi, l'entraînement inférieur à 70 % pour des concentrations de 20 p. mille de glucose tombe à 0 lorsque l'on atteint 1 p. mille.

GUILLAUMIN, au cours de l'emploi de cette technique vérifie que le filtrat ne contient plus de glucides en en chauffant quelques cc. avec une trace de Fehling.

Cette précaution est insuffisante dans notre cas particulier étant donné les très faibles concentrations de notre liquide en sucre.

Nous avons tenu cependant à revoir les travaux exécutés à propos de l'entraînement par les sels de Cu.

Fleury et Ambert ont étudié l'action de la soude et de la baryte à la place de la chaux. Ils constatent qu'avec la soude, on atteint rapidement un maximum pour décroître après. Avec la baryte, croissance régulière et tendance vers un maximum lorsque l'alcali est en grand excès.

Les conditions les plus favorables sont avec une concentration maximum en baryte ; on emploie une eau de baryte N/2,8 conservée à 30° pour éviter la cristallisation. Dans la précipitation, nous avons travaillé dans un courant d'eau froide, la température n'ayant pas d'action sur l'entraînement, mais facilitant l'oxydation du glucose.

Nous avons cherché à expérimenter dans les meilleures conditions possibles d'entraînement :

— la quantité de glucose fixé par une quantité déterminée de SO^4Cu ne peut dépasser un certain maximum, et ce maximum est linéairement proportionnel à la quantité de Cu introduite. Un gramme de SO^4Cu peut entraîner 466 mgrs de glucose.

— il est nécessaire que l'hydroxyde de cuivre soit très dispersé au moment de la formation, de manière que le sucre uniformément réparti soit le mieux possible en contact avec lui. Il est donc préférable d'ajouter les réactifs SO^4Cu et $Ba(OH)^2$ goutte à goutte et pratiquer une agitation constante au cours de cette addition. Comme la baryte employée est très concentrée, le précipité d'hydroxyde de Cu se formerait au point même où la goutte de SO^4Cu atteint le liquide.

Dans un Bécher de 150 cc., nous avons mis :

Sol. de glucose à diverses concentrations	20 cc.
SO^4Cu à 20 %	2 cc.
$Ba(OH)^2$ N 2/8	25 cc.
Eau distillée Q.S.p.	50 cc.

Deux cc. de SO^4Cu à 20 % correspondant à 400 mgrs de SO^4Cu, dose largement suffisante à l'entraînement de plus de 200 mgrs de glucose.

On mesure exactement le volume de solution sucrée dans le bécher et ajoute la quantité d'eau nécessaire pour obtenir un volume final de 50 cc.

Le récipient est placé dans un courant d'eau froide, et à l'aide de deux burettes de Morh, l'une de 25 cc., l'autre de 5 cc., on ajoute

alternativement par 0,2 cc. et 2,5 cc. les solutions de SO^4Cu et de Baryte, contenues dans les burettes, en agitant constamment.

On abandonne une heure en refroidissant toujours sous courant d'eau et en agitant fréquemment.

Enfin, on filtre sur filtre lavé.

Nous avons dosé par la méthode de Saint-Rat le glucose non entraîné :

Filtrat	5 cc.
Liqueur cuivrique	5 cc.
Liqueur sodique	5 cc.

en titrant par une solution de MnO^4K dont

1 cc → 0,998 mgr de Cu

nous avons pris pour faciliter les calculs :

1 cc → 1 mgr de Cu.

Nous avons condensé les résultats dans le tableau suivant :

	MGRS SUCRE EN EXPÉRIENCE	MGRS Cu POUR 5 cc DE FILTRAT	MGRS GLUCOSE DANS T CC DE FILTRAT	GLUCOSE TOTAL NON ENTRAINÉ	ENTRAINEMENT %
Sol. à 5 p. mille	100	3,2	1,2	12	88 %
Sol. à 3,75 p. mille	75	3,85	1,5	15	80 %
Sol. à 2,5 p. mille	50	3,8	1,48	14,8	70 %
Sol. à 1 p. mille	20	2,55	0,87	8,7	65 %
Sol. à 0,5 p. mille	10	2,55	0,87	8,7	13 %
Sol. à 0,25 p. mille	5	1,8	0,5	5	0 %

L'entraînement est évidemment bien meilleur qu'avec la chaux, pour les quantités de glucose inférieures à 100 mgrs mais sans jamais atteindre un pourcentage intéressant et stable. Au-dessous de 20 mgrs, c'est-à-dire d'une solution à 1 p. mille, il devient très faible.

Ambert (20) avait noté que lorsqu'on essaie d'entraîner de faibles quantités de glucose, au-dessous de 100 mgrs, il reste toujours en solution la même quantité de glucose, environ 15 à 18 mgrs. Nous avons constaté que ce sucre résiduel peut s'abaisser à 8,7 mgrs pour les essais avec 10 et 20 mgrs, une quantité de 5 mgrs étant intégralement retrouvée dans le filtrat.

Il expliquait cet entraînement incomplet en envisageant « la solubilité du complexe considéré comme combinaison chimique (Cuprogluco-

sate de baryum), ou tout au moins comme composé d'adsorption très stable. »

Les entraînements satisfaisants qu'il obtenait étaient réalisés sur des solutions très concentrées, par exemple, dans l'expérience suivante :

1	mol. glucose	2 cc glucose à 10 %, soit 200 mgrs
7	mol. SO^4Cu	9,8 cc SO^4Cu à 20 %
7,7	mol. Baryte	94 cc de Baryte N/5,45

le filtrat ne contenait plus que 3 mgrs de glucose, l'entraînement ayant été de 98,5 %.

Dans le cas de l'entraînement des principes glucidiques de l'urine, de telles concentrations de 10 % ne peuvent être réalisées. Ambert indique dans son travail que les essais sur ce milieu non déféqué, se sont révélés absolument infructueux, l'hydroxyde de cuivre étant presque entièrement solubilisé par les matières organiques de l'urine.

Comme la défécation par le réactif nitromercuriel par exemple, amène une dilution au 1/20 (que l'on peut d'ailleurs réduire sans inconvénient au 1/10), le défécat d'une urine à 10 grs de glucose par litre, par exemple, n'aura plus qu'une concentration de 1 p. mille.

Nos expériences ont porté sur des solutions de ce type, de 0,25 p. mille à 5 p. mille de glucose, correspondant, pour une défécation au 1/10, à des urines contenant de 2,5 à 50 gr. de sucre par litre.

Nous en avons conclu que l'entraînement cuprobarytique, jamais total faiblit pour des concentrations inférieures à 5 p. mille, c'est-à-dire pour celles rencontrées dans les recherches sur l'urine, et cela, d'une façon non définie. L'entraînement n'est pas proportionnel et la solubilité du complexe n'est pas une constance.

De ce fait, nous avons abandonné l'idée d'un dosage ultérieur des glucides régénérés par la méthode chromométrique.

Deuxième Partie

Etude critique de l'hydrolyse du lactose

Différents auteurs ont étudié l'hydrolyse du lactose, plus récemment Barsoum, examinant à nouveau cette question au cours d'un travail sur le dosage des mélanges de glucose et de lactose, a précisé certaines modalités de cette réaction. Il a établi sur le modèle des tables de Bertrand, une table expérimentale donnant les pouvoirs réducteurs des mélanges équimoléculaires de glucose et de galactose.

L'examen de cette table lui a permis de constater que les quantités d'oxyde cuivreux obtenues ne correspondent pas à la somme des quantités respectives d'oxyde cuivreux données par chacun des constituants, cette constatation ne devant pas surprendre puisqu'il n'y a pas proportionnalité entre les quantités de sucre mises en réaction et le poids d'oxyde cuivreux formé ; ainsi, pour fixer les idées si nous prenons un mélange contenant 40 mgrs de glucose et 40 mgrs de galactose, nous trouvons à la table correspondante les chiffres suivants en oxyde cuivreux:

Pour le glucose : 77,5 ; pour le galactose : 73,9 ; s'il y avait proportionnalité, autrement dit, si la loi de réduction était linéaire, nous devrions obtenir pour les 80 mgrs de mélange de glucides un poids d'oxyde cuivreux de :

$$77{,}5 + 73{,}9 = 151{,}4$$

La table expérimentale établie par Barsoum nous donne un poids d'oxyde cuivreux égal à 143,76, poids nettement inférieur.

Par contre, l'auteur avait constaté un fait intéressant que nous nous permettons de souligner, car, bien que figurant dans son travail, il n'est pas à notre avis exprimé d'une façon assez explicite et nous avons tenu à préciser la question.

Si au lieu de considérer la somme des poids d'oxyde cuivreux précipité par les quantités respectives de glucides, nous calculons la moyenne arithmétique des pouvoirs réducteurs des sucres envisagés sous une concentration égale à la concentration du mélange total, nous trouvons que les chiffres ainsi obtenus correspondent assez exactement aux chiffres expérimentaux. Ces chiffres figurent dans la thèse de BARSOUM, page 43, en un tableau donnant pour des quantités équimoléculaires variables de glucose et de galactose, les poids d'oxyde cuivreux trouvés par l'auteur d'une part, et d'autre part, ceux obtenus par le calcul indiqué.

Ainsi, nous voyons que si nous considérons un mélange de 80 mgrs de glucose et de galactose, la table de BERTRAND indique pour 80 mgrs de glucose un poids d'oxyde cuivreux égal à 146,1 ; pour 80 mgrs de galactose, la table correspondante indique 141,3, la moyenne est égale à :

$$\frac{146{,}1 + 141{,}3}{2} = 143{,}7$$

Le chiffre trouvé expérimentalement par BARSOUM étant de 143,76.

Un même calcul nous donne pour 50 mgrs du mélange glucose-galactose :

pour le glucose = 95,4

pour le galactose = 91,2

$$\text{Moyenne} : \frac{186{,}6}{2} = 93{,}3$$

Chiffre trouvé expérimentalement : 93,17.

Pour 70 mgrs de mélange :

pour le glucose : 129,8

pour le galactose : 125

$$\text{Moyenne} : \frac{254{,}8}{2} = 127{,}4$$

Chiffre trouvé expérimentalement : 127,35.

On peut donc affirmer, qu'aux erreurs d'expérience près, le pouvoir réducteur du mélange équimoléculaire de glucose et de galactose est

voisin d'une valeur moyenne du pouvoir réducteur de chaque constituant envisagé sous la même concentration.

Sur les conseils de M. le Professeur CORDIER, nous avons examiné à nouveau, dans les mêmes conditions que BARSOUM, l'hydrolyse du lactose et nous nous sommes borné à étudier cette réaction en présence d'acide chlorhydrique à la concentration de 2 %, l'opération étant réalisée en tube scellé. Nous avons retrouvé les mêmes résultats ; l'hydrolyse étant totale, c'est-à-dire le pouvoir réducteur étant stable au bout de 2 heures.

Egalement, nous avons vérifié que l'hydrolyse du lactose en présence de glucose est un peu plus lente, le pouvoir réducteur ne se stabilisant qu'au bout de 2 heures et demie à 3 heures suivant les proportions de glucose existantes.

Au cours de son travail, BARSOUM avait été surpris de constater que le poids du lactose hydrolysé était très légèrement supérieur au poids de lactose mis en jeu ; ayant effectué des dosages de lactose hydrolysé comparativement à des mélanges équimoléculaires de glucose et de galactose, il tirait de cette observation que le pouvoir réducteur du lactose hydrolysé était dans les conditions opératoires réalisées, très sensiblement différent par excès du pouvoir réducteur d'un mélange de glucose et de galactose. Nous avons examiné cette question et constaté que le poids de lactose hydrolysé obtenu par calcul par l'auteur se trouvait entaché d'une très légère erreur par excès due au choix du coefficient de correspondance choisi pour exprimer le poids de sucre trouvé en glucose.

L'équation dont se sert BARSOUM est la suivante :

$$p = (P - x)\ c + xc''$$

où p = poids de sucre exprimé en glucose

P = poids de lactose mis en jeu

c = coefficient de correspondance du lactose en glucose

c'' = coefficient de correspondance du mélange équimoléculaire glucose-galactose en glucose (coefficient tiré de la table glucose-galactose dont nous avons parlé précédemment)

x = quantité de lactose hydrolysé à chaque instant.

d'où on tire : $$x = \frac{p - Pc}{c'' - c}$$

Nous avons indiqué sous forme de tables les différentes valeurs des coefficients expérimentaux :

Table de correspondance du lactose hydraté en glucose

(Coefficient c)

MGRS LACTOSE HYDRATÉ	LACTOSE ANHYDRE EN MGRS	MGRS Cu	MGRS GLUCOSE CORRESPONDANT	c
15	14,25	20,35	10	0,666
20	19	27	13,3	0,666
30	28,5	40	20	0,666
40	38	52,7	26,63	0,665
50	47,5	65,2	33,3	0,665
60	57	77,5	40	0,666
70	66,5	89,6	46,7	0,667
80	76	101,7	53,7	0,671
90	85,5	113,5	60,4	0,671
100	95	125,2	67,3	0,673

Table de correspondance du mélange équimoléculaire glucose-galactose en glucose (Coefficient c")

MGRS LACTOSE HYDRATÉ	MÉLANGE ÉQUIMOL. GLUCOSE-GALACTOSE EN MGRS	MGRS Cu	MGRS GLUCOSE CORRESPONDANT	c"
20	20	39	19,45	0,972
25	25	48,3		
30	30	57,6	29,21	0,975
35	35	66,6		
40	40	75,6	39	0,975
45	45	84,4		
50	50	93,3	48,83	0,976
55	55	101,9		
60	60	110,5	58,66	0,977
65	65	118,7		
70	70	127,4	68,59	0,980
75	75	135,5		
80	80	143,7	78,53	0,981
85	85	151,7		
90	90	159,8	88,62	0,985
95	95	167,7		
100	100	175,7	98,7	0,987

Barsoum avait choisi comme coefficient moyen pour c : 0,67 et pour c" : 0,977.

Si nous considérons l'hydrolyse totale, en choisissant comme valeurs, pour c = 0,666 (qui, dans la table, correspond à de petites quantités

de lactose) ; pour c" = 0,981 (qui correspond à la quantité totale de lactose mis en expérience, soit 80 mgrs), le calcul nous donne :

$$x = \frac{3,95 - (4 \times 0,666)}{0,981 - 0,666} = 4,08,$$

alors que l'auteur est parti de 4,063 grs, résultat à 1/200 près.

Du reste, l'examen de la quantité d'oxyde cuivreux obtenu qui est en moyenne, au cours de nombreux essais, de 144,5 mgrs correspond sensiblement à ce que donne un mélange de 2,031 grs de glucose et 2,031 grs de galactose :

$$\frac{143,1 + 148}{2} = 145,5$$

Nous trouvons donc, dans ces conditions, des résultats sensiblement voisins des chiffres théoriques, aux erreurs d'expérience près.

La déduction de Barsoum, selon laquelle dans certains cas le pouvoir réducteur du lactose hydrolysé est sensiblement supérieur à celui du mélange équimoléculaire de glucose et de galactose se trouve erronée, l'auteur ayant surtout tenu compte des chiffres obtenus par le calcul après hydrolyse et dont le très léger excès par rapport au chiffre théorique provenait du coefficient choisi.

TROISIÈME PARTIE

CHAPITRE I

Essai de dosage de mélanges de glucose et de lactose, par la méthode de BERTRAND, avant et après hydrolyse

Cette technique est basée sur :

1) Un dosage par le Bertrand du pouvoir réducteur avant l'hydrolyse :

$$p = x + cy$$

c étant variable suivant la quantité de lactose en expérience.

2) Un dosage par le Bertrand après hydrolyse par 2 % HCl :

$$p' = x + yc''$$

c'' étant variable suivant la quantité de lactose.

Nous avons repris les résultats volumétriques de BARSOUM et avons cherché à vérifier si nos coefficients plus précis amélioraient les résultats.

1) 40 mgrs de glucose + 40 mgrs lactose :
avant hydrolyse : 119,9 mgrs de Cu, soit p = 64,2 mgrs de glucose
après hydrolyse : 141,25 mgrs de Cu, soit p' = 77 mgrs de glucose
pour 40 mgrs de lactose, c = 0,665
c'' = 0,975

d'où :

x = 36,7 mgrs glucose au lieu de 40
y = 41 mgrs lactose au lieu de 40.

2) 30 mgrs glucose + 50 mgrs lactose :
avant hydrolyse : 117,3 mgrs de Cu, soit p = 62,7 mgrs de glucose
après hydrolyse : 145,6 mgrs de Cu, soit p' = 79,7 mgrs de glucose
pour 50 mgrs de lactose, c = 0,665
c'' = 0,976

d'où :

$x = 26{,}3$ mgrs de glucose au lieu de 30
$y = 54{,}6$ mgrs de lactose au lieu de 50.

Nous constatons que nos coefficients n'apportent pas d'amélioration sensible.

Nous avons exécuté un dosage du même type : 25 mgrs de glucose + 30 mgrs de lactose hydraté.

Nous avons obtenu avant hydrolyse 8,65 cc de MnO^4K (correction : 1 cc = 9,98 de Cu), soit 86,33 mgrs de Cu, correspondant à 45 mgrs de glucose.

Donc $p = 45$.

Nous avons obtenu après hydrolyse, 10,4 cc de MnO^4K, soit 103,8 mgrs de Cu et 54,8 mgrs de glucose.

Donc, $p' = 54{,}8$.

Pour 30 mgrs de lactose, $c = 0{,}666$
$c'' = 0{,}975$

d'où :

$y = 31{,}7$ mgrs de lactose au lieu de 30.
$x = 23{,}9$ mgrs de lactose au lieu de 25.

Nous en concluons que la technique de BERTRAND, excellente pour le dosage d'un sucre seul, amène des erreurs assez importantes, lors du dosage de mélanges de différents sucres, où l'on doit faire intervenir des formules à fonctions linéaires. L'irrégularité de la raison de la progression d'une table de BERTRAND ne permettant pas un raisonnement algébrique.

CHAPITRE II

Essai de dosage de mélanges de glucose et de lactose par l'iodomercurométrie et l'iodométrie

Soient dans une solution :

x mgrs glucose anhydre

y mgrs lactose hydraté.

1) Nous avons pour le dosage à l'iodomercurate :

$$N = xm + yn$$

N nombre de cc I N/10 consommés ;

m correspondance en cc I N/10 de 1 mgr de glucose anhydre, soit : $m = 0{,}248$

n correspondance en cc I N/10 de 1 mgr de lactose hydraté, soit : $n = 0{,}1885$

2) Pour le dosage par iodométrie :

$$N' = xo + yp$$

N' nombre de cc d'I N/10 consommés ;

o correspondance en cc I N/10 de 1 mgr de glucose anhydre, soit $o = 0{,}111$

p correspondance en cc I N/10 de 1 mgr de lactose hydraté, soit $p = 0.0555$.

De ce système de deux équations à deux inconnues,

$$(1)\ N = xm + yn$$
$$(2)\ N' = xo + yp$$

nous tirons :

$$y = \frac{mN' - No}{mp - no} \qquad x = \frac{Np - N'n}{mp - no}$$

ce qui nous donne en introduisant les valeurs des paramètres :

$$y = \frac{248\ N' - 111\ N}{7,2} = (34,44\ N' - 15,41\ N) \text{ mgrs lactose hydraté}$$

$$x = \frac{555\ N - 1885\ N'}{72} = (7,7\ N - 26,2\ N') \text{ mgrs glucose anhydre}$$

Nous avons travaillé avec un mélange à parties égales de deux solutions à 1/1.000, l'une de glucose, l'autre de lactose, soigneusement vérifiées séparément par iodomercurométrie.

1) Nous avons dosé 10 cc de cette solution, soit 5 mgrs de glucose + 5 mgrs de lactose, par l'iodomercurate.

Nous avons versé 27,8 cc $S^2O^3Na^2$ N/100 ·

cc I N/10 consommés, 2,22 cc.

D'où N = 2,22.

2) Nous avons dosé 10 cc de cette même solution par iodométrie.

Nous avons versé 40,6 cc $S^2O^3Na^2$ N/100.

Un essai à blanc sur 10 cc d'eau distillée, exécuté dans les mêmes conditions nous a donné 48,9 cc $S^2O^3Na^2$ N/10.

D'où, Iode N/10 consommé :

$$4,89 - 4,06 = 0,83 \text{ cc.}$$

$$\text{et } N' = 0,83$$

Ces deux valeurs de N et de N', nous les avons portées dans les formules trouvées précédemment :

$$x = 7,6\ N - 26,2\ N'$$

$$y = 34,44\ N' - 15,41\ N$$

ce qui nous a donné :

$$x = 4,65 \qquad y = 5,63$$

Soit une erreur de — 7 % pour le glucose et de + 12 % pour le lactose.

Ces fortes erreurs nous ayant surpris, nous avons cherché à nous rendre compte des variations que pouvaient subir les résultats suivant la correction des deux dosages.

Théoriquement, x et y égalant 5 mgrs, nous aurions du obtenir par iodomercurométrie :

$$(5 \times 0,248) + (5 \times 0,1885) = 2,182 \text{ cc I N/10}$$

et par iodométrie :

$$(5 \times 0{,}111) + (5 \times 0{,}0555) = 0{,}832 \text{ cc I N/10}$$

Supposons une erreur de + 1 % pour N :

N = 2,204	x = 4,83 mgrs	erreur —	3,4 %
N' = 0,832	y = 5,41 mgrs	erreur +	8,2 %

Supposons une erreur de + 1 % pour N' :

N = 2,182	x = 5,21 mgrs	erreur +	4,2 %
N' = 0,84	y = 4,7 mgrs	erreur —	6 %

Supposons une erreur double de 1 % en excès :

N = 2,204	x = 5,04 mgrs	erreur +	0,8 %
N' = 0,84	y = 5,03 mgrs	erreur +	0,6 %

Supposons enfin une erreur de + 1 % pour l'iodométrie et de — 1 % pour iodomercurométrie :

N = 2,16	x = 5,38 mgrs	erreur +	7,6 %
N' = 0,84	y = 4,35 mgrs	erreur —	13 %

Nos dosages sont exécutés avec une erreur maximum de 1 % ; mais nous voyons par ces quelques chiffres théoriques que les erreurs d'analyse sont décuplées par l'équation.

Deux dosages corrects à 1/100 près peuvent amener un résultat entaché d'une erreur pouvant atteindre 13 % pour l'un des constituants du mélange.

CHAPITRE III

Essai de dosage de mélanges de glucose et de lactose par l'Iodomercurométrie et la méthode de Bertrand

Dans un premier dosage par iodomercurométrie, nous pouvons écrire :

$$(1) \qquad p = x + ya$$

où x = mgrs de glucose

y = mgrs de lactose hydraté

a = coefficient iodomercurométrique du lactose en glucose, soit $\frac{1,881}{2,48} = 0,758$ (coefficient qui est constant dans un intervalle correspondant à des quantités de mélange des deux sucres oscillant entre 5 et 18 mgrs).

Dans un deuxième dosage, par la méthode de Bertrand, dans lequel nous utilisons une prise d'essai 4 fois plus concentrée en respectant le volume des 20 cc réclamés par la méthode, nous obtenons :

$$(2) \qquad P = 4x + 4yc$$

c étant, comme nous l'avons vu, le coefficient de correspondance du lactose hydraté en glucose.

Comme dans l'expérience ici réalisée, nous avons pris :

x = 5 mgrs de glucose

y = 10 mgrs de lactose hydraté,

$4y$ valent 40 mgrs de lactose et la valeur de c sera donc de 0,665.

De ces deux équations, nous tirons :

$$x = \frac{Pa - 4pc}{4(c - a)} \qquad y = \frac{4p - P}{4(c - a)}$$

Première dosage. — Par iodomercurométrie :

5 mgrs de glucose + 10 mgrs de lactose

I N/10 consommé : 3,125 cc

d'où p = 12,594 mgrs de glucose.

Deuxième dosage. — Par la méthode de Bertrand :

20 mgrs de glucose + 40 mgrs de lactose

Nous avons obtenu 8,95 cc d'une solution de MnO^4K dont 1 cc correspond à 9,98 mgrs de Cu, ce qui nous donne un poids de Cu de 89,32 mgrs correspondant à 46,6 mgrs de glucose. D'où P = 46,6.

Les valeurs de x et de y sont :

x = 4,89 mgrs de glucose au lieu de 5 mgrs

y = 10,15 mgrs de lactose au lieu de 10 mgrs.

soit une erreur de — 2 % pour le glucose et de + 1,5 % pour le lactose.

CONCLUSIONS

Les résultats obtenus au cours de notre étude nous permettent de présenter les observations suivantes :

1) Nous avons augmenté la précision du dosage, par iodomercurométrie, de quantités de glucose ou de lactose de l'ordre de 10 à 15 mgrs en observant strictement les conditions de volume de liquide en expérience et en utilisant pour le titrage de l'iode en excès une solution de $S^2O^3Na^2$ N/100, la température du bain-marie devant être d'au moins 90° et la quantité de soude N devant être comprise entre 3 et 5 cc pour un volume total de 80 cc.

L'action de l'iode passe par un optimum au bout de 2'20" de contact pour le glucose et de 8' pour le lactose. Après ces temps, intervient une réaction parasite. L'iode se porte alors vraisemblablement sur les oxhydriles des molécules oxydées des glucides. La connaissance de ces deux temps permet de pallier partiellement aux erreurs dues à l'action parasite, dans le cas d'un mélange de sucre, en répétant l'expérience avec un temps de contact d'iode à déterminer d'après le résultat primitif, suivant la prédominance de l'un des sucres.

2) Nous avons adapté la technique de Dumazert relative au dosage iodométrique des aldoses, à des quantités de sucre voisines de 10 mgrs.

3) Nous avons constaté que la technique d'entraînement cuproalcalin des sucres ne pouvait être appliquée à de faibles quantités de glucose. Le procédé de Van Slyke d'entraînement des principes glucidiques en vue d'un dosage de l'acide B-oxybutyrique se révèle totalement insuffisant pour des concentrations en glucose inférieures à 5 p. mille. Les résultats obtenus avec la baryte comme agent alcalin, quoique meilleurs, ne permettent aucune application pratique. L'entraînement, de 70 % pour 70 mgrs, tombe à 0 pour 5 mgrs.

Nous avons conclu que l'entraînement cuprobarytique, jamais total, faiblit pour des quantités de glucose inférieures à 100 mgrs et cela d'une façon non définie. L'entraînement n'est pas proportionnel et la solubilité du complexe n'est pas une constante.

L'échec de cette technique nous a fait abandonner l'idée d'un dosage chromométrique.

4) Nous avons repris l'étude du coefficient de correspondance du lactose dans la méthode de Bertrand. Nous avons démontré que ce

coefficient n'est que très approximatif et perd sa valeur lors du dosage de lactose en présence de glucose.

5) Nous avons fait la même étude pour le coefficient du mélange équimoléculaire glucose-galactose en glucose et nous sommes arrivés aux mêmes conclusions.

6) Nous avons retrouvé les mêmes résultats expérimentaux que BARSOUM, mais nous avons précisé que contrairement à son assertion, le pouvoir réducteur du lactose hydrolysé est bien exactement celui d'un mélange équimoléculaire de glucose et de galactose, les chiffres obtenus par lui étant entachés d'une très légère erreur par excès due au choix du coefficient du lactose hydrolysé en glucose, dans les conditions de concentration réalisées.

7) Nous avons vérifié les résultats indiqués par BARSOUM concernant l'hydrolyse du lactose et confirmé que cette hydrolyse est réalisée entièrement au bout de 2 heures en tube scellé, avec une concentration en acide chlorhydrique de 2 %. Cette hydrolyse est bien retardée en présence d'un autre sucre, tel que le glucose et n'est totale qu'au bout de 3 heures environ.

8) L'étude de différents dosages d'un mélange de glucose et de lactose a montré que les équations pouvaient décupler les erreurs minimes d'analyse et cela dans un sens et pour des valeurs impossibles à prévoir.

9) Nous avons enfin constaté que la technique de BERTRAND pour le dosage d'un mélange de glucides, tel que celui de lactose et de glucose ne peut permettre la détermination de la proportion de chacun des constituants avec une précision suffisante.

Vu :
Clermont-Ferrand, le 16 Novembre 1942.
Le Président du Jury,
P. CORDIER.

Vu et Approuvé :
Clermont-Ferrand, le 16 Novembre 1942.
Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,
A. SARTORY.

Vu et Permis d'imprimer :
Clermont-Ferrand, le 17 Novembre 1942.
Le Recteur de l'Académie,
Président du Conseil de l'Université,
Pour le Recteur :
Le Vice-Président du Conseil de l'Université,
A. DANJON.

Bibliographie

TRAVAUX CITÉS

(1) Bigwood et Schnoeck. — De l'identification du glucose et du lactose dans l'urine par la formation d'osazones (*Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1932 - 14 - 570).

(2) Farges. — Glycosurie et lactosurie (*Journ. Pharm. Chim.*, 1915, 12, 188).

(3) Nottin. — Dosage du maltose en présence du glucose par l'emploi de la liqueur de Barfoed (*Bull. Soc. Chim.*, 1914, 35, 1527).

(4) Fleury et Tavernier. — Peut-on employer l'acétate de cuivre pour doser le glucose en présence de lactose ? (*Journ. Pharm. Chim.*, 1924, 30, 225).

(5) Hildt. — Dosage du glucose en présence de lactose (*Jour. Pharm. Chim.*, 1920, 21, 136).

(6) Barsoum. — Contribution à l'étude de l'hydrolyse du lactose et de son dosage en présence de glucose (*Thèse Pharm. Strasbourg*, 1939).

(7) Fleury et Marque. — Etude de l'action de l'iodomercurate en milieu alcalin sur les polyols et les corps voisins (*Jour. Pharm. Chim.*, 1929, 10, 241).

(8) Bougault. — Nouvelle méthode de dosage des sucres aldéhydiques (*Journ. Pharm. Chim.*, 1917, 16, 97).

(9) Hinton et Macara. — Application de la méthode iodométrique au dosage des sucres (*Bull. Soc. Chim.*, 1924 - 36-1 - 1093).

(10) Pauchard. — Contribution à l'étude du dosage des sucres aldéhydiques par la méthode iodométrique (*Thèse Pharm. Paris*, 1927).

(11) Dumazert. — Sur le microdosage des aldoses (*Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1934 - 16 - 934).

(12) Cuny et Robert. — Sur le dosage iodométrique de l'urée par l'oxydation sulfochromique (*Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1931, 13, 1167).

(13) Cordebard. — Dosage chromométrique des protéides (*Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1941, 23, 383).

(14) Weiskopf. — Microdosage du cholestérol par oxydation chromique du complexe cholestérol-digitonoside (*Thèse Pharm. Strasbourg*, 1942).

(15) Cordebard. — Dosage des substances complètement oxydables par oxydation sulfochromique (*Thèse Pharm. Nancy*, 1922).

Cordebard. — L'oxydation chromique en analyse quantitative (*Thèse de Pharmacien supérieur, Nancy*, 1941).

(16) Polonowski. — Microdosage des substances réductrices. Indice chromique (*C. R. Soc. Bio.*, 1922, 86, 853).

(17) Polonowski et Lespagnol. — Sur le microdosage du lactose dans le lait (*B. S. C. B.*, 1927, 9, 1110).

(18) Van Slyke. — Corps acétoniques de l'urine (*Journ. Biol. Chem.*, 1917, 32, 464).

(19) Bissinger. — Ueber Fallung des Traubenzuckers nach Zalkowski-Van Slyke (*Bioch. Zeitschrift*, 1926, 168, 421).

(20) Ambert. — Entraînement des sucres et des polyols par le sulfate de cuivre et la baryte (*Thèse Pharm. Paris*, 1924).

TRAVAUX CONSULTÉS

Blanchetière. — Détermination iodométrique de l'oxydule de cuivre en présence de sels cuivreux (*Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1924, 6, 509).

Boivin. — Le microdosage du carbone par oxydation sulfo-chromique (*Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1929, 11, 1269).

Cordebard et Michl. — Procédé de dosage volumétrique des matières organiques complètement oxydables par le mélange sulfo-chromique en milieu NO^3Ag (*Bull. Soc. Chim.*, 1928, 43, 97).

Desgrez et Vivario. — Sur le dosage du carbone dans les matières organiques (*C. R. Ac. Sc.*, 1925, 180, 886).

Fleury et Ambert. — Contribution à l'étude du carbone indosé et du carbone glucidique dans l'urine normale (*Journ. Pharm. Chim.*, 1930, 12, 352).

Nicloux. — Microdosage des substances organiques en solution diluée par oxydation sulfo-chromique (*C. R. Ac. Sc.*, 1931, 192, 985).

Polonowski et Lindenberg. — Processus d'oxydation sulfo-chromique des alcools, aldéhydes, cétones (*Bull. Soc. Chim. Bio.*, 1939, 21, 1056).

Rosin et Hitchcook. — Recherche du glucose dans le lactose (*Journ. Pharm. Chim.*, 1934, 19, 355).

Table des Matières

INTRODUCTION 7

Rappel des techniques proposées pour le dosage d'un mélange de glucose et de lactose 8

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE I. — Etude de l'Iodomercurométrie 13
Etude du glucose 18
Etude du lactose 26

CHAPITRE II. — Etude de l'Iodométrie 33

CHAPITRE III. — Essai d'entrainement des sucres (glucose et lactose) en vue d'un isolement d'un liquide biologique et dosage ultérieur par chromométrie. 37

DEUXIÈME PARTIE.

Etude critique de l'hydrolyse du lactose 45

TROISIÈME PARTIE

CHAPITRE I. — Essai de dosage de mélanges de glucose et de lactose par la méthode de Bertrand avant et après hydrolyse 51

CHAPITRE II. — Essai de dosage de mélanges de glucose et de lactose par l'iodomercurométrie et l'iodométrie 53

CHAPITRE III. — Essai de dosage de mélanges de glucose et de lactose par l'iodomercurométrie et la méthode de Bertrand 56

CONCLUSIONS 59

BIBLIOGRAPHIE 61